Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN — **L. BRAUNER** MÜNCHEN — **E. BÜNNING** TÜBINGEN

48. BAND, 2. HEFT

MIT 44 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 11. DEZEMBER 1956)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1956

Planta (Berl.)

Preis DM 26.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie, Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an *Professor Dr. Leo Brauner*, *München 19*, *Menzingerstr. 67*, *Botanisches Inst. der Universität*.

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28-30, Fernsprecher 27901

---

48. Band **Inhaltsverzeichnis** 2. Heft

Taubert, H., Über den Infektionsvorgang und die Entwicklung der Knöllchen bei Alnus glutinosa Gaertn. Mit 8 Textabbildungen 135

Libbert, E., Untersuchungen über die Physiologie der Adventivwurzelbildung. II. Mitteilung. Die korrelative Beeinflussung der Adventivwurzelbildung durch andere Organe, insbesondere durch die Wurzel. Mit 5 Textabbildungen 157

Ziegler, H., Frühjahrsblutungssaft als Nährboden für die Kultur isolierter Wurzeln. Mit 7 Textabbildungen 190

Raschke, K., Über die physikalischen Beziehungen zwischen Wärmeübergangszahl, Strahlungsaustausch, Temperatur und Transpiration eines Blattes. Mit 13 Textabbildungen 200

Lyr, H., Untersuchungen über die Peroxydasen höherer Pilze. Mit 10 Textabbildungen 239

Ziegler, H., Bacterium radicicola im Elektronenmikroskop. Mit 1 Textabbildung 266

Planta, Bd. 48, S. 135—156 (1956)

Aus dem Institut für Allgemeine Botanik der Friedrich Schiller-Universität Jena
(Direktor: Prof. Dr. Hans Wartenberg)

Über den Infektionsvorgang und die Entwicklung der Knöllchen bei Alnus glutinosa Gaertn.

Von

Hans Taubert

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Juli 1956)

1. Einleitung

Die Natur des Endophyten in den Wurzelknöllchen von *Alnus* spec. und die physiologischen Verhältnisse der Symbiose sind häufig untersucht worden, während die Entwicklungshistologie der Knöllchen bisher nur Pommer (1955) bearbeitet hat. Auf den eigentlichen Infektionsvorgang gingen lediglich Peklo (1910), Arcularius (1928), Schaede (1933), v. Plotho (1942), Quispel (1954) und Pommer (1955) näher ein. Bei Krebber (1932) und Hawker u. Fraymouth (1951) findet man die Geschichte der Erforschung der Erlenknöllchen ausgiebig referiert.

Die Arbeit, über die hier berichtet wird, befaßte sich mit der Entwicklung der Knöllchen unter besonderer Berücksichtigung des Infektionsvorganges.

Hawker u. Fraymouth wollen den Endophyten auf Grund von Beobachtungen an Frischmaterial, Gefriermikrotomschnitten und Material, das mit modernen Fixiermitteln gewonnen wurde, wieder zu den *Plasmodiophorales* stellen. Pommer fand, daß *Penicillium albidum* und *Cylindrocarpon radicicola* ebenfalls an Erlenwurzeln Knöllchen (allerdings nur kleine und kurzlebige) erzeugen können.

Diese Ergebnisse und die Tatsache, daß Isolations- und Reinfektionsversuche seit der Arbeit von v. Plotho in keinem Falle wieder gelungen sind (Hawker u. Fraymouth, Quispel, Pommer), lassen für die systematische Stellung des bisher als *Actinomyces alni* Peklo bezeichneten Endophyten Zweifel aufkommen. — v. Plotho beobachtete bei ihren Reinfektionsversuchen erst nach über 12 Monaten(!) die ersten Knöllchen. Die Identität der von v. Plotho aus Knöllchen isolierten *Actinomyces*stämme mit dem Knöllchenorganismus ist daher fraglich. Einen ausführlichen Überblick über die bisherigen systematischen Zuordnungen des Knöllchenorganismus hat Pommer gegeben. Bei kritischer Betrachtung sowohl der zuletzt erschienenen Arbeiten als auch meiner eigenen Untersuchungen erlaube ich mir daher kein endgültiges Urteil über die Natur des Endophyten in den Knöllchen der Erlen. Immer noch ist die Präparation gerade der frühesten Stadien des Endophyten keineswegs als gelöst zu bezeichnen. Hinzukommt die außerordentliche Feinheit des Objektes.

Wenn auf Grund all dieser Tatsachen den Untersuchungen auch eine relative Unsicherheit anhaftet, soll doch auf eine Darstellung der vorliegenden Ergebnisse nicht verzichtet werden. Folgende Fragen sollten durch diese Arbeit einer Lösung nähergebracht werden:

1. Wie erfolgt die Infektion und wie breitet sich der Endophyt im Gewebe aus?

2. Wie reagiert das Gewebe auf die Infektion und aus welchem Gewebe heraus werden die Knöllchen aufgebaut?

2. Material und Methoden

Die Aufzucht knöllchenfreier Erlen. Um den Infektionsvorgang auch in den ersten Stadien beobachten zu können, mußten knöllchenfreie Erlen erzogen werden. Die Wurzeln dieser Pflanzen wurden infiziert und in verschiedenen Zeitabständen nach dem Impfen fixiert und präpariert. Nur so konnten die verschiedenen Abschnitte der Knöllchenbildung chronologisch erfaßt werden.

Da die Wurzeln mit dem Mikrotom geschnitten werden sollten, wurden die Pflanzen nur in Nährlösung aufgezogen. Am besten hat sich die v. D. CRONEsche Lösung bewährt.

Nüßchen von *Alnus glutinosa* Gaertn. wurden in feuchten Kammern bei 24 bis 29° C zum Keimen gebracht. Hatten die Keimlinge eine Größe von 3—4 cm erreicht, kamen sie auf normale v. d. Crone-Lösung von halber Konzentration. Die Lösungen wurden immer mit Aqua dest. angesetzt und nachgefüllt. Als Salze kamen keine pa-Substanzen zur Verwendung. Hierdurch erübrigte sich eine Zugabe von Spurenelementen. Wenn die Pflanzen durch beginnende schwache Chlorose N-Mangel anzeigten, wurde die Nährlösung erneuert. Alle Kulturgefäße wurden mit schwarzem Papier abgedunkelt und mit weißem Papier vor zu starker Erwärmung durch Sonnenbestrahlung geschützt. Nach etwa drei Wochen hatten die Pflanzen eine Größe von 6—7 cm ereicht. Nun kamen sie auf v. d. Crone-Lösung von normaler Konzentration. Als Kulturgefäße dienten Literflaschen mit weitem Hals. In jeder Flasche wurden vier Pflanzen aufgezogen. Ein Regulieren der Wasserstoffionenkonzentration in den Bereich p_H 5,5 bis p_H 5,8 (KREBBER 1932, ROBERG 1934) erwies sich als ungünstig, denn infolge des Zusatzes von Schwefelsäure oder Natronlauge traten an den Wurzeln Bräunungen und an den Blättern Chlorosen und Nekrosen auf. Deshalb wurde die Wasserstoffionenkonzentration weder in der Nährlösung der nichtinfizierten Erlen (normale v. d. Crone-Lösung) noch in der Nährlösung der später infizierten Erlen (N-freie v. d. Crone-Lösung) beeinflußt. Sie war anfangs bei beiden Lösungen im Bereich von p_H 5,7 bis p_H 5,9, veränderte sich aber in 10 Tagen in der Vollösung in der Richtung nach alkalischen Werten bis p_H 7,84 und in der Mangellösung in der Richtung nach saureren Werten bis p_H 3,50, wobei in beiden Fällen das Wachstum sehr gut war.

Die gesunden knöllchenfreien Wurzeln sehen weiß aus und sind vollständig mit einem gleichmäßigen Flaum von Wurzelhaaren überzogen. Die Streckungszonen sind hellgelb und die Wurzelspitzen weinrot gefärbt.

Versuche zur Isolation des Endophyten. Bisher hat nur v. PLOTHO von einer gelungenen Isolation des Knöllchenorganismus und von einer Reinfektion berichtet. QUISPEL führte sehr gründliche Isolations- und Reinfektionsversuche durch. Es gelang ihm in keinem Falle, den Knöllchenorganismus zu isolieren. Seine Versuche mit den von v. PLOTHO isolierten *Actinomyces*-Stämmen zeigten, daß diese nicht oder nicht mehr zur Knöllchenbildung fähig waren. POMMER, der mit 23 isolierten *Actinomyces*-Stämmen Reinfektionen durchführte, konnte ebenfalls keine gelungene Isolation verzeichnen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden auch Isolationsversuche angelegt. Es wurde dabei genauestens nach den Angaben von v. PLOTHO verfahren. Die isolierten *Actinomyces-*

Stämme stimmten makroskopisch mit den von v. PLOTHO beschriebenen überein. Reinfektionen verliefen aber negativ.

Das Impfen der Erlen. Als die Erlen eine Größe von 10—12 cm erreicht hatten, wurden sie in v. D. CRONEsche Mangellösung (N-frei) gesetzt. Fünf Tage später wurde geimpft. Da das Isolieren des Endophyten nicht gelungen war, mußte das Impfen mit Knöllchenmaterial durchgeführt werden.

HILTNER (1896), KREBBER, QUISPEL und POMMER impften durch Zugabe von Gewebebrei zerriebener Knöllchen zur Nährlösung. HILTNER und KREBBER beobachteten nach der Zugabe der Suspension eine Schädigung der Pflanzen. KREBBER führte dies weniger auf den eindringenden Endophyten als auf schädliche Stoffe, besonders Gerbstoffe, zurück, die mit der Knöllchensubstanz in die Nährlösung gekommen waren.

Um das Beschädigen der Wurzeln zu vermeiden, impfte ich die Erlen in folgender Weise. Die knöllchenfreien Wurzeln wurden aus der Nährlösung genommen, kurz in eine Suspension von zerriebenem Knöllchengewebe eingetaucht und dann wieder in die Nährlösung zurückgesetzt. Um den Hauptanteil der Gerbstoffe zu beseitigen, schälte ich die Knöllchenstücke vor der Herstellung der Gewebebreiaufschlämmung. Nach dem Impfen in dieser Art konnte an den Pflanzen nie eine Schädigung beobachtet werden. Der Infektionserfolg war immer sehr gut.

Das Präparieren der Wurzeln und die Herstellung der Dauerpräparate. In der Zeit vom 3. bis 27. Tage nach der Infektion entnahm ich in kurzen Abständen aus dem oberen Drittel der Wurzelmasse Wurzelstücke und präparierte sie. Fixiert wurde mit Lavdowsky und Carnoy. Zum Hochführen und Einbetten erwies sich die Methode über Alkohol-Benzol-Paraffin immer wieder als die beste. Die Wurzelstückchen und die jungen Knöllchen wurden in Serien geschnitten (Schnittdicke 8—10μ), mit Fuchsin-Jodgrün gefärbt (SCHAEDE 1933) und in Xylol-Colophonium (SCHAEDE) und Neutralbalsam eingedeckelt. Eine intensive Anfärbung des Endophyten gelang auch mit einer etwas modifizierten Tuberkelbazillenfärbung nach ZIEHL-NEELSEN:

1. Die Objektträger kommen aus Wasser oder 15%igem Alkohol auf eine Färbebank und werden mit einer konzentrierten Lösung von Carbolfuchsin überschichtet und bis zur Dampfbildung erwärmt. Färbedauer 2 min. 2. Abspülen mit frischer LUGOLscher Lösung und mit frischer Lösung nachbeizen. 3. Kurzes Eintauchen in 5%ige Schwefelsäure. 4. Differenzieren in 70%igem Alkohol. 5. Hochführen über Alkohol-Xylol und eindeckeln wie oben.

Wie SCHAEDE schreibt, werden in älteren Knöllchen die Verhältnisse durch sekundäre Veränderungen so unübersichtlich, daß sich über den Infektionsverlauf nichts Sicheres mehr aussagen läßt. Ich war daher bemüht, möglichst lückenlose Schnittserien sowohl durch frisch infizierte Wurzelstücke als auch durch Knöllchenanlagen, die schon makroskopisch erkennbar waren, herzustellen. Dadurch war es möglich, die räumlichen Verhältnisse an den Infektionsstellen zu rekonstruieren.

3. Der makroskopisch wahrnehmbare Infektionsvorgang

In der Literatur schwanken die Angaben über den Zeitraum von der Impfung bis zur ersten sichtbaren Knöllchenbildung in weiten Grenzen. HILTNER sprach von rund sieben Tagen, KREBBER impfte Mitte März und beobachtete im Mai die ersten Knöllchen. v. PLOTHO bemerkte sogar erst nach über 12 Monaten die ersten Knöllchen. QUISPEL schreibt, daß sich nach etwa drei Wochen die ersten Knöllchen bilden und nach sechs bis sieben Wochen alle Knöllchen ausgebildet sind. POMMER konnte nach drei bis vier Wochen die ersten Anschwellungen feststellen. Diese unterschiedlichen Angaben machten es notwendig, den Zeitraum zwischen Impfung und ersten makroskopisch sichtbaren Anzeichen einer Infektion erneut zu überprüfen. Gleichzeitig wurde damit etwas Klarheit über den Ort und die weiteren Auswirkungen der Infektion geschaffen.

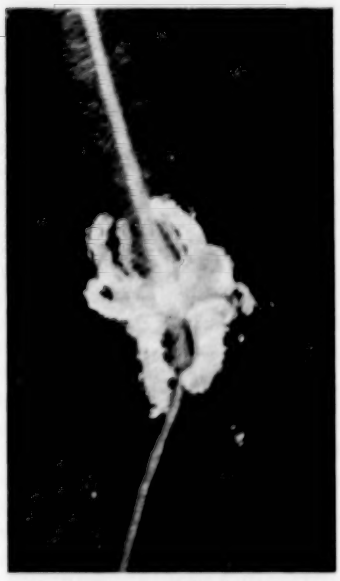

Abb. 1. Junges Knöllchen. Die weißen Zellmassen sind das Produkt des sehr aktiven Oberflächenperiderms der primären Rinde und können nicht dem Knöllchengewebe zugeordnet werden. Vergr. 7 : 1

Das erste makroskopische Anzeichen einer Infektion besteht in einer Rötung der Infektionsstelle. Besonders im oberen Drittel der sonst vollkommen weißen Wurzelmasse treten auf einmal rosa gefärbte Stellen hervor. Die Farbe geht später in ein kräftiges Weinrot über. In Handschnitten von Frischmaterial kann man sehen, daß die Rotfärbung auf anthocyanfarbigen Zellsaft einzelner Rindenzellen zurückzuführen ist.

Im nächsten Stadium beginnen die infizierten Stellen anzuschwellen. Dies geschieht 10 bis 20 Tage nach der Infektion. Meist beträgt die Längsausdehnung dieser Anschwellung 2 bis 3 mm, es können aber auch längere Strecken einer Wurzel angeschwollen sein. Einen bevorzugten Ort für die Infektion scheint es nicht zu geben. Meist finden sich die Infektionsstellen im oberen Drittel der Wurzelmasse — also in den besser durchlüfteten Geweben und Wasserschichten. An der Wurzelspitze und 1 bis 2 cm hinter ihr findet man keine Infektion, da die Wurzelspitze weiterwächst, ehe man eine Infektionsstelle wahrnehmen kann. Ungefähr drei Wochen nach dem Umsetzen auf N-freie Nährlösung macht sich an den Blättern aller Pflanzen eine gleichmäßige, aber nur schwach ausgeprägte Chlorose bemerkbar.

Im weiteren Verlauf bilden sich durch die Tätigkeit von Oberflächenperidermen auf den Anschwellungen der Wurzeln Zellmassen, die infolge des Luftgehalts der Intercellularen weiß erscheinen (Abb. 1 und 8). Diese Zellmassen können in der Wasserkultur bis zu 5 mm groß werden. Die späteren Stadien bringen lediglich eine Größenzunahme der Anschwellungen und leiten damit zur allgemein bekannten Form der Wurzelknöllchen über.

Erwähnenswert ist noch der Vorgang des Wiederergrünens der chlorotisierten Blätter, der 30 bis 40 Tage nach der Impfung beginnt. Bis zu dieser Zeit sind die Pflanzen in der N-freien Mangellösung schwach

Tabelle 1. *Zeitliche Folge der verschiedenen Infektionsstadien*
(Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Tage nach dem Impfen)

	Impfung	Erste Rötungen	Erste Verdickungen	Wiedergrünung
1. Versuch . . .	20. 4.	27. 4. bis 2. 5. (7—11)	10.—12. 5. (20—22)	31. 5. (40)
2. Versuch . . .	31. 5.	5.—7. 6. (5—7)	7.—11. 6. (7—11)	31. 7. (31)

Die Differenzen in den letzten beiden Spalten sind wohl auf die unterschiedliche Jahreszeit zurückzuführen.

chlorotisch geworden, da sich der Stickstoffmangel bemerkbar macht und die Verdauung des Endophyten durch die Erlenwurzeln noch nicht begonnen hat. Wenn die Stickstoffversorgung durch den Endophyten einsetzt, färben sich alle Blätter in wenigen Tagen dunkelgrün. Auffallend ist die Gleichmäßigkeit, mit der eine Versuchsreihe ergrünt. Das Ergrünen beginnt an der Sproßspitze und zieht sich von oben nach unten über die gesamte Pflanze hinweg, bis auch das älteste Blatt wieder dunkelgrün geworden ist. Das einzelne Blatt ergrünt von den Blattadern aus. Tabelle 1 gibt Aufschluß über die zeitliche Folge der verschiedenen Infektionsstadien.

4. Die Entwicklungsstadien des Endophyten und der mikroskopisch wahrnehmbare Infektionsvorgang

Der Endophyt tritt in der Pflanze in verschiedenen Formen auf. Um Irrtümer zu vermeiden, ist eine Beschreibung dieser Stadien, wie sie im Längsschnitt eines fertigen Knöllchens auftreten, notwendig.

Der mediane Längsschnitt durch ein Knöllchen zeigt nicht nur die räumliche Verteilung der einzelnen Entwicklungsstadien des Endophyten im Knöllchen, sondern auch ihr zeitliches Aufeinanderfolgen. Da die Knöllchen, wie noch beschrieben werden muß, modifizierte Seitenwurzeln sind, haben sie ein Spitzenwachstum. Der Endophyt muß der wachsen-

den Spitze im Wachstum folgen. Deshalb findet man an der Spitze die jüngsten, an der Basis der Knöllchen die ältesten Stadien des Endophyten.

Das Knöllchen wird von einem mehrschichtigen derben, sehr gerbstoffreichen Periderm umgeben. Darauf folgt ein relativ mächtiges Rindenparenchym. Im Inneren liegt der Zentralzylinder, der von einer Sekundärendodermis umgeben ist. An der Spitze liegt das endophytenfreie Meristem, das laufend weiterwächst und das Knöllchen aufbaut. Knapp hinter diesem Meristem liegt die Infektionszone. Hier wächst der Endophyt dem Vegetationspunkt nach und infiziert laufend neue Zellen.

Selbst in jüngster Zeit sind die Ansichten über die Form des Endophyten in diesem Stadium sehr geteilt. Nach SCHAEDE (1933) wächst er mit einem oder mehreren Fäden, sog. „Hauptfäden" in die neuen Zellen hinein. Dort sollen sich die Fäden verzweigen und ein feines dichtes Hyphenknäuel, die sog. „Zweigfäden" bilden. Während SCHAEDE (1933) mit Juel fixierte, haben HAWKER u. FRAYMOUTH Frischmaterial verarbeitet, Gefriermikrotomschnitte hergestellt und mit modernen Fixiermitteln (Craff II) fixiert. Nach ihnen liegt der Endophyt nur als nacktes Plasmodium vor; sie stellen ihn daher zu den *Plasmodiophorales*. Das Plasmodium soll die Zellwände durchbohren und in die neuen Zellen einfließen, wo es sich dann an den Zellkern legt. HAWKER u. FRAYMOUTH bestreiten die Existenz von Hyphenstadien und sprechen nur von Plasmasträngen. Nach ihrer Meinung sind die Hyphen nur Produkte der alten Fixiermittel. Auch in den von mir mit Carnoy und Lavdowsky fixierten Präparaten erscheint der Endophyt in einer Form, die man als „plasmodiumähnlich" ansprechen kann. Bei schon etwas länger infizierten Zellen sieht es aber aus, als ob das „Plasmodium" fädigen Charakter annimmt. Bei der Beurteilung solcher Bilder muß die Frage unbeantwortet bleiben, ob zwischen dem, was „Plasmodium" genannt wird, und den fädigen Erscheinungen eine ontogenetische Beziehung besteht. Ich hatte manchmal den Eindruck, daß das sogenannte „Plasmodium" nur coaguliertes Cytoplasma der Wirtszelle ist, das den Organismus, dessen erstes Stadium auch fädig zu sein schien, einhüllt, und daß die Fäden des Endophyten durch Wachstum wieder an die Oberfläche der Plasmamasse vordringen. Diese Deutung des Bildes hat etwas für sich, weil das sogenannte Plasmodium immer den wirtseigenen Kern einschließt, was auch HAWKER u. FRAYMOUTH schon beobachtet haben. Ob die eigenartige Plasmacoagulation allein eine Folge der Infektion der Zelle war oder aber zusätzlich durch die Fixierung zustande kam, konnte nicht eindeutig festgestellt werden. Es ist noch zu bedenken, daß in Querschnitten durch sehr dichte und sehr feine Hyphenknäule die vielen angeschnittenen Hyphen ebenfalls eine granulierte plasmodiumartige Masse vortäuschen können.

In der Richtung von der Knöllchenspitze zur Basis folgt auf die Infektionszone ziemlich unvermittelt das Bläschenstadium des Endophyten. Die Bildung der Bläschen muß relativ schnell erfolgen, denn sonst müßte sich die Übergangszone über ein größeres Gebiet erstrecken. Der betreffende Zustand, den WARMING schon 1876 und MÖLLER 1885 beschrieben haben, wurde von BRUNCHORST (1886) ertmalig als „Bläschenstadium" bezeichnet. Nach LIESKE (1921), KREBBER (1932) und SCHAEDE (1933, 1943) sind die Bläschen Involutionsformen des Endophyten. Die Autoren sind der Ansicht, daß die Bläschen durch Einwirkung der Wirtspflanze entstehen und Hyphenenden mit gehemmtem Längenwachstum darstellen. Schon FRANK (1891) bezeichnete die Bläschen als „degenerierte, vor Eiweiß strotzende Verbildungen" des Endophyten. Dieser Ansicht stimmt SHIBATA (1902) weitgehend zu. MÖLLER (1885) und BRUNCHORST sahen dagegen in den Bläschen die Sporangien der *Frankia* (das war zu jener Zeit der Gattungsname für den Knöllchenorganismus). In neuester Zeit halten HAWKER u. FRAYMOUTH die Bläschen ebenfalls für sporangienartige Gebilde. Sie schreiben: "The production of definite spherical sporangia by the endophytes of *Elaeagnus*, *Hippophae* and *Alnus* and of club-shaped ones by that of *Myrica* is no obstacle to the inclusion of these organisms in the *Plasmodiophorales* since modern work (COOK & SCHWARZ 1929, 1930; COOK 1933; KARLING 1942) has suggested the existence of a sporangial stage in *Plasmodiophora brassicae* and in some other members of the group". Einen Zerfall der Bläschen in kleinere Einheiten beschrieben WOLPERT (1910), SCHAEDE (1933) und neuerdings auch POMMER (1955).

Mit fortschreitendem Spitzenwachstum des Knöllchens rücken die Bläschen immer mehr in die Verdauungszone des Knöllchens und werden von der Pflanze resorbiert. Die Erle verdaut nur den Inhalt des Endophyten. Die schwer anfärbbaren Membranreste bleiben übrig. Die ehemals mit Bläschen angefüllten Zellen kollabieren und das Knöllchen schrumpft hier etwas ein. Darum sind die Knöllchen an der Spitze dicker als an der Basis (SCHAEDE 1933).

Neben den Bläschen sind die schon erwähnten Hauptfäden die charakteristischste Erscheinungsform des Endophyten. Nach SHIBATA (1902) und SCHAEDE (1933, S. 391, dasselbe Bild 1943 und 1948) neigen die Fäden im Alter zum Zerfall in fast gleichlange stäbchenartige Stücke, die oft in Reihen durch mehrere Zellen hindurch zu verfolgen sind. Sie können auch durch Zellen führen, in denen der Endophyt noch als Hyphenknäuel oder im Bläschenstadium vorliegt. Bei meinem Material konnte ich die gegliederten Hauptfäden auch in den infizierten Wurzelhaaren feststellen (Abb. 2 und 3), während bisher diese Form nur in den Geweben erwachsener Knöllchen gefunden wurde. Die Abbildungen bei POMMER zeigen infizierte Wurzelhaare mit ungegliederten, ziemlich dicken

Hyphen. Gegliederte Hauptfäden werden nicht dargestellt. Die Frage, ob der von POMMER abgebildete Organismus in den Wurzelhaaren mit dem von mir abgebildeten identisch ist, kann ich nicht beantworten.

In Abb. 3 wird das Wurzelhaar von mindestens drei Fäden längs durchzogen. Unsere Bilder haben mit der Mikrophotographie bei

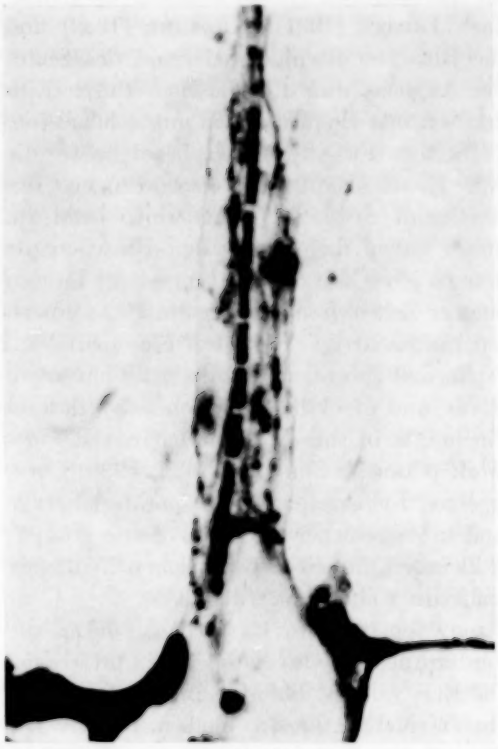

Abb. 2

Abb. 3

Abb. 2. Infiziertes Wurzelhaar. Der Endophyt liegt in der Form des gegliederten Hauptfadens vor. Vergr. 2520:1

Abb. 3. Mittlerer Teil eines infizierten Wurzelhaares mit mindestens drei Hauptfäden. Der Pfeil deutet auf die scheinbare Membran des Endophyten. Vergr. 2520:1

SCHAEDE (1933, S. 391, ebenso Abb. 45 in 1943 und 1948) größte Ähnlichkeit.

Die auffallende Membran des Endophyten (←) hat SCHAEDE (1933) als Bildung des Cytoplasmas der Wirtszelle angesprochen.

Zunächst möchte man bei diesen Gebilden an ein zartes gegliedertes Pilzmycel denken.

In die Entwicklungsreihe des Endophyten schiebt sich noch die Erscheinungsform des Bakteroidstadiums ein. Da diese Form in ihrer Entstehungsweise, Physiologie und Funktion noch sehr problematisch

und ihre Beschreibung für das Verständnis der vorliegenden Arbeit ohne Belang ist, soll hier nicht näher auf sie eingegangen werden. SCHAEDE (1933) hat dieses Stadium bisher am ausführlichsten beschrieben.

Unter dem Eindruck der vielfältigen Erscheinungsformen des Endophyten tauchen erneut die Zweifel auf, die ARCULARIUS (1928) schon andeutete und die durch das Auffinden von zwei neuen knöllchenbildenden Organismen durch POMMER noch verstärkt wurden: Handelt es sich bei dem allgemein als *Actinomyces alni* Peklo bezeichneten Organismus tatsächlich nur um einen Organismus oder leben mehrere Endophyten gleichzeitig in Symbiose mit der Erle ?

Der Infektionsvorgang an der Erlenwurzel durch „*Actinomyces alni* Peklo" wurde bisher nur von POMMER beschrieben. Aber schon immer wurde vermutet, daß das zarte Wurzelhaar die Einbruchspforte für den Endophyten darstellt. Als HILTNER zum ersten Male knöllchenfrei aufgezogene Erlen mit zerriebener Knöllchensubstanz impfte, beobachtete er an den Wurzeln die Bildung von Zonen mit deformierten Wurzelhaaren, zum Teil fehlten die Wurzelhaare vollständig. Er wollte in dieser Erscheinung eine Reaktion der Pflanze auf das Eindringen des Endophyten sehen. KREBBER machte aber an nichtinfizierten Erlen die gleiche Beobachtung. Damit hätte dieser vermutete Zusammenhang zwischen Deformation und Infektion als widerlegt gelten müssen. Trotzdem hat v. PLOTHO erneut eine solche Beziehung angenommen. Die Autorin bezog sich dabei auf THORNTON (1936), der die Veränderungen der Wurzelhaare an der Luzerne nach erfolgter Infektion mit *Bacterium radicicola* beschrieben hat. In Schnittserien durch Zonen mit deformierten Wurzelhaaren konnte v. PLOTHO den Endophyten nicht feststellen.

PEKLO hat 1910 Isolationsversuche mit dem Endophyten durchgeführt. Obwohl PEKLO nach Reinfektionsversuchen in vielen Wurzelhaaren Infektionsschläuche gesehen haben will (zum Teil schon in vivo!), bildeten sich keine oder nur ganz vereinzelte Knöllchen, die, der Arbeitsweise zufolge, auch zufällig entstanden sein können. Bei *Hippophae rhamnoides* suchte ARCULARIUS nach der Primärinfektion. Der Sanddorn lebt mit einem ähnlichen Endophyten in Symbiose wie die Erlen und bildet ebenfalls Rhizothamnien aus. ARCULARIUS zog Sanddorn im Boden vom Originalstandort auf und suchte in 14tägigem Abstand die Wurzelhaare nach Infektionsschläuchen ab. Nach 12 Wochen konnte er noch keine Infektion feststellen. SCHAEDE (1933) rekonstruierte anhand einer Schnittserie durch ein junges Knöllchen den Infektionsvorgang. Es handelte sich dabei aber nicht um eine Primärinfektion, sondern anscheinend um die zusätzliche Infektion eines schon angelegten jungen Knöllchens. Die Einzelheiten einer Primärinfektion konnten daher von SCHAEDE nicht erfaßt werden.

Die nachfolgenden Beschreibungen des Infektionsvorganges, wie er in meinen eigenen Versuchen beobachtet wurde, gründen sich alle auf Präparate von jungen Infektionen, aus denen eindeutig hervorgeht, daß der Endophyt vom Wurzelhaar aus in die Wurzel eingedrungen war. Es muß betont werden, daß es noch nicht gelungen ist, das Eindringen des Endophyten in das Wurzelhaar zu beobachten.

Abb. 4 gibt einen Überblick über eine junge Infektionsstelle. Der Endophyt ist von dem blasig aufgetriebenen Wurzelhaar aus in das primäre Rindenparenchym eingedrungen. Im Infektionsstrang des Wurzelhaares sind SCHAEDES gegliederten Hauptfäden zu erkennen. Bei der Betrachtung dieses Bildes und besonders der Abb. 2 und 3 gewinnt man den Eindruck, als ob die Hauptfäden, die in den infizierten Wurzelhaaren einer Infektionsstelle zu finden sind, eine erste Wachstumsform vertreten. Es muß aber darauf aufmerksam gemacht werden, daß die Anschauung von HAWKER u. FRAYMOUTH, der Endophyt dringe als „Plasmodium" in die Zellen ein und ein „Plasmodium" sei seine parasitäre Lebensform in der Zelle, durch die Darstellung des Hauptfadens im Wurzelhaar nicht verdrängt wird. Das Wurzelhaar war ja schon länger befallen als die weiter innen im Rindenparenchym infizierten Zellen, die die plasmodiumartige Form demonstrieren. Letztere werden ja nach dem Eindringen des Endophyten in das Wurzelhaar erst bei seiner weiteren Ausbreitung befallen. Was im Wurzelhaar gefunden werden kann, ist also immer das älteste Stadium im Entwicklungsgang des Endophyten. Auch hier muß wieder, wie es oben schon geschehen ist, auf die Möglichkeit hingewiesen werden, daß der Endophyt primär vielleicht doch in Fadenform existiert, anfangs beim parasitären Wachstum im coagulierten Plasma der Wirtszelle verschwindet, es vielleicht verdaut und

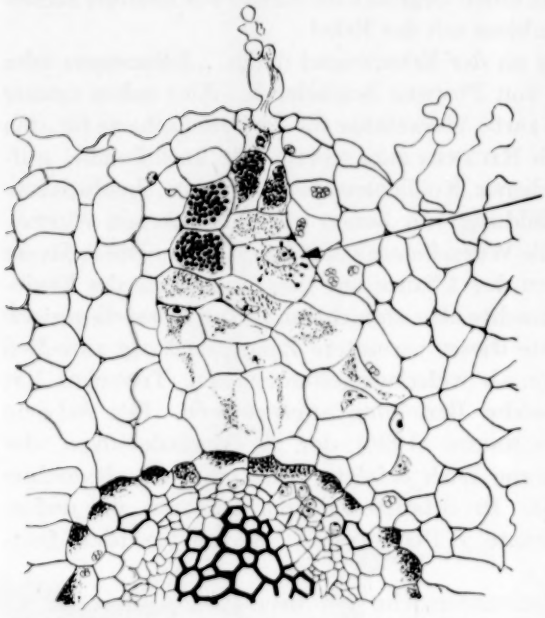

Abb. 4. Junge Infektionsstelle. Im blasig aufgetriebenen Wurzelhaar ist ein Infektionsstrang zu erkennen. Bei (←) geht der Endophyt in das Bläschenstadium über. Vergr. 400:1

dann durch Hervorwachsen an die Plasmaoberfläche in seiner Hyphenform wieder sichtbar wird.

Von dem Wurzelhaar aus ist der Endophyt in das Rindenparenchym vorgedrungen. Hier hat er sich in tangentialer Richtung nur wenig ausgebreitet, während er zentripetal die Endodermis erreicht hat. In einer solchen Infektionsstelle liegen die verschiedenen Entwicklungsstadien des Endophyten — der Wuchsrichtung entsprechend — in umgekehrter Reihenfolge als in einem fertigen Knöllchen (s. S. 140). Außen liegen die ältesten, innen, da der Endophyt zum Zentralzylinder hinwächst, die jüngsten Stadien. In den äußeren Parenchymzellen ist der Endophyt in das Bläschenstadium übergegangen. Dicht gepackt liegen die Bläschen in einer plasmatischen Grundsubstanz. Zum Teil füllt der Endophyt die Zellen auch als stark gefärbte kompakte Masse aus. In dieser Zone und auch in dem etwas zentraler liegenden Parenchym lassen sich fädige Strukturen erkennen, wenn auch nicht einzelne Fäden auf längere Strecken verfolgt werden können. Anders verhält es sich mit den schon erwähnten Hauptfäden. Diese lassen sich sowohl in den ältesten als auch in den mittleren Zonen einer Infektionsstelle deutlich beobachten, manchmal selbst durch mehrere Zellen hindurch. In einem Querschnitt durch eine Infektionszone liegen, je nach ihrem Alter, die verschiedenen Stadien des Endophyten aneinandergereiht im Rindenparenchym. Daher findet man mitunter auch Zellen, in denen der Endophyt gerade in das Bläschenstadium übergeht (Abb. 4). An der Peripherie des Plasmas solcher Zellen liegen die Bläschen in verschiedenen Größen vor. Bei stärkster Vergrößerung erkennt man sie als terminale Anschwellungen äußerst dünner Fäden. Der Endodermis am nächsten liegen die zuletzt infizierten Zellen. Hier zeigt sich der Endophyt in einer Form, die ich nach meinen Präparaten als „plasmodiumartig" bezeichnen muß. Fädige Strukturen lassen sich kaum feststellen. Eine sichere Beschreibung dieses Stadiums kann auf Grund der angewandten Präparations- und Färbetechnik noch nicht gegeben werden. Die granulierte Masse in diesen Zellen liegt meist den hypertrophierten Zellkernen an oder schließt diese ganz ein. Im allgemeinen fallen die infizierten Parenchymzellen durch ihre Größe und ihre hypertrophierten Kerne auf. Auf die Reaktionen des befallenen und des benachbarten nichtbefallenen Rindenparenchyms wird noch eingegangen. Von den übrigen Geweben hebt sich die Endodermis auf Grund ihres hohen Gerbstoffgehaltes durch intensivere Anfärbung deutlich ab.

Wie Schaede (1933) schreibt, sammelt sich bei *Alnus glutinosa* um die Infektionsfäden herum mehr Cytoplasma an als es bei den anderen Erlenarten geschieht. Ich konnte nicht endgültig entscheiden, ob die plasmodiumartige Masse in den frischinfizierten Zellen das Cytoplasma der Wirtszelle darstellt oder ob es eine Substanz ist, die von dem Endo-

phyten gebildet wird. Diese Schwierigkeit ist wahrscheinlich immer bei der Beobachtung früher Infektionen gegeben. Wie schon gesagt wurde, treten im ersten Infektionsstadium Erscheinungen auf, die Ähnlichkeit mit einem Plasmodium haben. Liegt eine Infektionsstelle vor, bei der der Endophyt nur in das Wurzelhaar und noch nicht weiter vorgedrungen ist, dann sieht man wahrscheinlich nur ein plasmodiumähnliches Gebilde. Es dürfte dann kaum möglich sein, bestimmt zu entscheiden, ob die Plasmamasse dem Endophyten angehört oder das coagulierte Plasma der Wirtszelle darstellt, das die Hyphen des Endophyten verbirgt.

POMMER beschreibt das Eindringen des „Actinomyceten" in die Erlenwurzel und belegt seine Ausführungen mit Abbildungen. Eine plasmodiumartige Erscheinungsform des Endophyten in frisch infizierten Zellen wird allerdings nicht erwähnt. Auch von einer Plasmavermehrung in den Wirtszellen wird nichts berichtet. Nach seinen Beobachtungen soll an der Stelle, wo der Actinomycet in das Wurzelhaar eindringt oder eingedrungen ist, eine blasenförmige Auftreibung entstehen. Das braucht jedoch keine Wirkung der Infektion zu sein, denn wie KREBBER so konnte auch ich solche Deformationen (Auftreibungen, Spiralisierungen, Verzweigungen usw.), an Wurzelhaaren nichtinfizierter Wurzeln beobachten.

5. Die Ausbreitung des Endophyten im primären Rindengewebe

Wenn der Endophyt von dem Wurzelhaar aus in die primäre Rinde eingedrungen ist, verbreitet er sich in den meisten Fällen nicht beliebig im Gewebe, sondern wächst in einem Gebiet von geringer Breite sogleich auf die Endodermis zu (Abb. 4). Und zwar sucht er die nächste Stelle der Endodermis auf, hinter der im Zentralzylinder Xylemprimanen liegen. Damit siedelt er sich über dem Gebiet an, von dem aus die Bildung der Seitenwurzeln erfolgt (Abb. 7). Es muß von dem Gewebe der künftigen Seitenwurzelanlage aus ein Richtungsreiz auf den Endophyten ausgeübt werden. Primäre Wurzeln haben in der Endodermis vor den Xylemprimanen Durchlaßzellen. Vielleicht ist durch die besondere Funktion der Durchlaßzellen im Rindengewebe ein Konzentrationsgefälle gegeben, durch das der Endophyt sein Wachstum chemotropisch ausrichtet. In älteren Wurzeln ist diese Wachstumsausrichtung nicht mehr so ausgeprägt, was mit der geringen Zahl der Durchlaßzellen zusammenhängen kann.

Je nach der Lage der Infektionsstelle an der Peripherie wächst der Endophyt in radialer (Abb. 4) oder schräger Richtung auf die Durchlaßzellen der Endodermis zu. Hat der Endophyt das Gewebe über den Xylemprimanen erreicht, dann breitet er sich haubenartig über diesem Gebiet aus. An der Endodermis sind dabei keine Veränderungen zu bemerken. *Es wurde von mir nie beobachtet, daß der Endophyt die Endodermis durchdringt.* Im befallenen Rindenparenchym und in einem gewissen Bereich des umliegenden nichtbefallenen Gewebes reagieren die

Zellen mit Hypertrophie und Hyperplasie. Sie können dabei zu größeren Gewebekomplexen werden, die arm an Interzellularen sind (Abb. 5, 6 und 8). Das übrige Parenchym behält seinen zarten, oft parenchymartigen Charakter bei. Durchmustert man Schnittserien von Infektionszonen, so zeigt sich, daß diese in longitudinaler Richtung der Wurzel ihre größte Ausdehnung erreichen. Vor allem die Reaktionen des benachbarten nichtinfizierten Parenchyms prägen sich in longitudinaler Richtung bedeutend stärker aus als in tangentialer. Wartenberg (1953) hat ähnliches bei der Bearbeitung der Blutlausgallen beobachtet. Er schreibt: „Offenbar begegnet der Diffusion des gallenerregenden Stoffes in der Längsrichtung der Achse weniger Widerstand als in den tangentialen Richtungen." Um die Infektionszonen herum speichern manche Zellen beträchtliche Gerbstoffmengen, die durch intensive Anfärbung deutlich hervor treten. Auffallend ist auch die bedeutende Stärkeablagerung in unmittelbarer Nachbarschaft der infizierten Zellen. Die Stärkekörner erreichen oft die Größe der Bläschen des Endophyten. Meist sind sie zusammengesetzt. Das einzelne Stärkekorn ist rund und besitzt eine helleuchtende Zentralzone. In den infizierten Zellen sind Stärkekörner viel seltener zu beobachten.

Im Parenchym, das unter dem Vergallungsreiz des eingedrungenen Endophyten steht, beweisen alle Zellen erneute Teilungsfähigkeit. In mehrfach wiederholter Teilung bildet sich jeweils aus einer Zelle eine Gruppe von Zellen, die ohne Interzellularen eng zusammenhängen und noch eine gewisse Zeit die gemeinsame Abstammung aus einer Initialzelle erkennen lassen (Abb. 5, 6 und 8). Später verschwimmt das Bild.

Die durch Fernwirkung vergallten Zellen können später vom Endophyten befallen werden, wobei sich dann zunächst das jüngste Stadium, die plasmodiumähnliche Form, zeigt, die sich balkenförmig durch die Zellen zieht und den hypertrophierten Zellkernen entweder anliegt oder die Zellkerne einschließt. (Bezüglich der Deutung dieses Bildes vgl. oben S. 140.) Bei stärkerer Infektion kann die Reaktion des Parenchyms soweit gehen, daß jede Parenchymzelle im Wurzelquerschnitt hypertrophiert und geteilt ist. Hypertrophie und Hyperplasie des Parenchyms führen nur zu einer begrenzten Anschwellung der Wurzel. Diese Anschwellung ist noch nicht das Knöllchen. *Ohne Reaktion des Zentralzylinders tritt keine Knöllchenbildung ein.* Die eben beschriebenen Reaktionen des primären Rindenparenchyms sind bei den Infektionen der Zellen im sekundären Knöllchengewebe nicht in dem ausgeprägten Maße zu beobachten. Wie das eigentliche Knöllchengewebe entsteht, wird weiter unten beschrieben.

Hier ist zunächst eine Erscheinung zu besprechen, die man als „latente Infektion" bezeichnen könnte. An älteren Wurzeln, in denen das sekundäre Dickenwachstum schon eingesetzt hat, erfolgen auch Infektionen.

Die Ausbreitung des Endophyten kann aber dort nach einiger Zeit zum Stillstand kommen. Der Knöllchenorganismus breitet sich nur über wenige Zellen aus und liegt dann nur noch im Bläschenstadium vor. Zu weiteren Zellinfektionen ist er nicht mehr fähig. Das angrenzende Parenchym zeigt nur in geringem Grade Hypertrophie und Hyperplasie.

Wie kommt es, daß in einem Falle der Endophyt eine starke Hypertrophie und Teilung des Parenchyms verursacht und sich dabei stark vermehren kann, und im anderen Falle die Ausbreitung nach der Infektion weniger Zellen mit dem Übergang in das Bläschenstadium abgeschlossen wird? Nach ZIMMERMANN (1927) kann eine Eindringungsresistenz und eine Ausbreitungsresistenz des Wirtsgewebes gegen den Parasiten unterschieden werden. Wahrscheinlich besitzt die Erle keine Resistenz gegen das Eindringen des Endophyten; aber offenbar entwickelt sich gegen ihn mit dem Älterwerden der Wurzelorgane eine Ausbreitungsresistenz.

6. Die Knöllchenbildung durch Infektion einer Seitenwurzelanlage aus dem primären Rindengewebe heraus

Schon SCHACHT (1853) und BRUNCHORST (1886) erwähnen die Ähnlichkeit des Knöllchenaufbaues mit dem einer normalen Seitenwurzel. MÖLLER (1890) nannte die Knöllchen „echte Pilzgallen" und FRANK (1891) hielt sie für besondere Neubildungen von eigentümlich morphologischem Charakter, die aus der primären Rinde gebildet würden. v. GUTTENBERG (1940) sah die Knöllchen für umgewandelte „Saugwürzelchen" an, die die letzten Auszweigungen des gesamten Wurzelsystems darstellen sollen. Die Ähnlichkeit des anatomischen Aufbaues der Knöllchen mit dem der normaler Seitenwurzeln wird von SCHAEDE (1943) erneut betont. Er weist auf das Fehlen einer typischen Kalyptra und die frühe Umkleidung mit Periderm hin, wodurch sich die Knöllchen unter anderem von den echten Seitenwurzeln unterscheiden. Trotzdem spricht er von einer exogenen Bildung der Knöllchen. Im Abschnitt über die Symbiose mit Cycadeen schreibt er: „Besonders mit den letzteren — gemeint sind die Actinomyceten-Symbiosen — zeigen ja die Korallenwurzeln nicht geringe Ähnlichkeit, entstehen doch auch sie exogen, verzweigen sich gablig und besitzen keine Wurzelhaube, ganz abgesehen von der äußeren Gestalt." Erst POMMER brachte den Beweis, daß die Knöllchen den normalen Seitenwurzeln homolog gesetzt werden können. Da seine Beschreibung von der Entwicklung der Knöllchen zum Teil erheblich von meinen Beobachtungen abweicht und in gewissen Punkten vielleicht auch ergänzt werden kann, wird noch einmal auf die Bildungsweise der Wurzelknöllchen eingegangen.

Will man die Entwicklungshistologie eines Knöllchens anhand von Schnitten verfolgen und seinen jeweiligen anatomischen Aufbau unter Berücksichtigung der Ausbreitung des Endophyten beurteilen, so muß man an den zu untersuchenden Infektionsstellen folgende histologischen Bilder beachten: erstens das Wurzelhaar, von dem aus die Infektion erfolgte, zweitens den Medianschnitt durch das Gebiet, in dem sich der Endophyt am stärksten ausgebreitet hat, und drittens den Medianschnitt durch die Seitenwurzelanlage (= Knöllchenanlage). Leider liegen diese drei

Bilder meist nicht in einer Schnittebene. In den folgenden Abbildungen habe ich mich auf die Medianschnitte durch die Seitenwurzelanlagen beschränkt.

Die eigentliche Knöllchenbildung beginnt mit der Reaktion der Perizykelzellen. Unter dem infizierten Rindenparenchym teilen sich einzelne Perizykelzellen und es kommt zur Ausbildung einer ganz normalen Seitenwurzelanlage (Abb. 5). POMMER schreibt: „Dann beginnt die Wurzel infolge des Infektionsreizes eine Seitenwurzelanlage auszu-

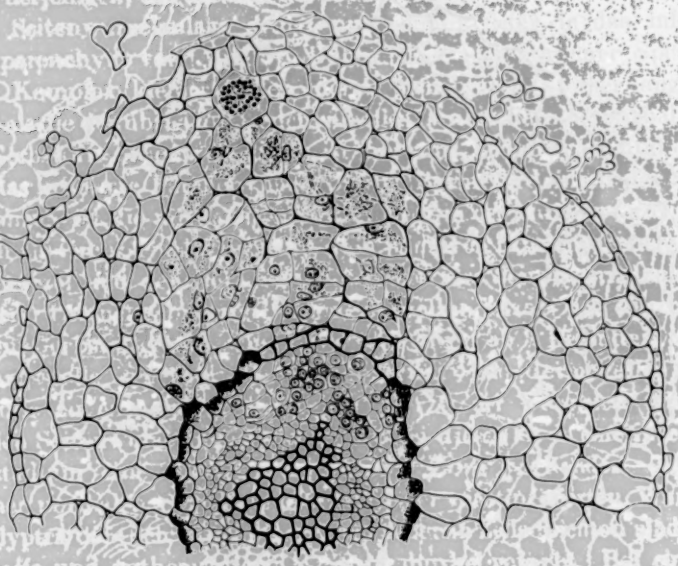

Abb. 5. Unter dem infizierten Rindenparenchym hat sich eine normale Seitenwurzelanlage gebildet. Die Endodermis wächst unter antiklinen Teilungen mit. Vergr. 150:1

bilden." Die Frage, ob der Endophyt fähig ist eine Seitenwurzel zu induzieren, oder ob die Seitenwurzelanlagen unter den infizierten Gebieten des Rindenparenchyms unabhängig von der Infektion entstehen, ist jedoch noch nicht geklärt. QUISPEL, der gründliche und vielseitige Infektionsversuche angelegt hat, kommt zu einem anderen Schluß. Nach seinen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Impfdichte und Anzahl der gebildeten Knöllchen erfolgt die Infektion und Knöllchenbildung dadurch, daß eine präformierte Stelle des Wurzelsystems zufällig unter den Einflußbereich des Endophyten kommt. In Abhängigkeit von der zugegebenen Impfmenge soll die Anzahl der gebildeten Knöllchen eine Mitscherlich-Kurve ergeben. Die Anzahl der gebildeten Knöllchen ist nach Erreichung einer gewissen Größenordnung aber unter gleichen Bedingungen nicht mehr zu steigern.

Anatomische Merkmale (Häufung von Nebenwurzelanlagen unter infizierten Gebieten, starke Verzweigung ausgebildeter Knöllchen)

deuten aber darauf hin, daß der Endophyt vielleicht doch Seitenwurzeln induzieren kann.

Die hervorwachsende Seitenwurzelanlage unterscheidet sich nur dadurch von einer normalen Anlage, daß sie das infizierte und dadurch veränderte Rindenparenchym vor sich hat und in dieses hineinwachsen muß. Es dürfte zweckmäßig sein, die junge Seitenwurzel erst dann als

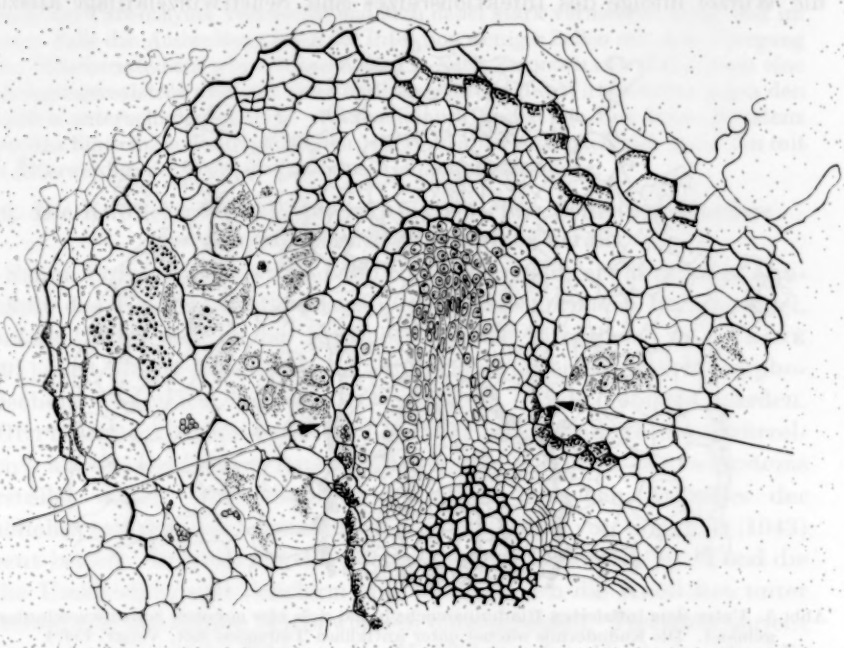

Abb. 6. Die Seitenwurzelanlage ist tief in das infizierte Rindenparenchym vorgedrungen. Die Pfeile markieren die gerbstoffarme Zone, durch die der Endophyt in die Seitenwurzelanlage eindringt. Vergr. 150:1

Knöllchenanlage zu bezeichnen, wenn sie vom Endophyten infiziert worden ist. In dem Stadium, das durch Abb. 5 dargestellt wird, hat diese Infektion noch nicht stattgefunden.

Da die Endodermis durch Einschalten antikliner Zellwände mitwächst, bedeckt sie als geschlossene Zellschicht die Seitenwurzelanlage. In den neugebildeten Endodermiszellen ist der Gerbstoffgehalt nicht so hoch wie in den alten. Daher werden sie auch nicht so intensiv angefärbt wie diese. Trotzdem ist der Gerbstoffgehalt immer noch hoch genug, um dem Endophyten das Hindurchwachsen durch die Endodermis zu verwehren. Somit schützt deren lückenlose Schicht die Seitenwurzelanlage vorläufig vor der Infektion durch den Endophyten. Während die Seitenwurzelanlage immer tiefer in das infizierte Rindenparenchym vorstößt, erfährt dieses in immer stärkerem Maße die oben (S. 147) beschriebenen

Veränderungen. Hypertrophie und darauffolgende Hyperplasie lassen zum Teil mächtige Zellpakete entstehen. Das reagierende Parenchym wird oft so kompakt, daß die Seitenwurzelanlage zur Seite abgedrängt wird. Der Endophyt breitet sich unterdessen immer weiter aus und umgreift endlich die gesamte Seitenwurzelanlage. Auch Abb. 5 zeigt wieder, daß der Endophyt bevorzugt das Gebiet über den Xylemprimanen besiedelt. Die Verteilung seiner Entwicklungsstadien entspricht weitgehend derjenigen, die anhand der Abb. 4 beschrieben wurde.

Die Seitenwurzelanlage dringt nun immer tiefer in das infizierte Rindenparenchym vor (Abb. 6). Dabei bildet sich vor ihrer Spitze ein dichter Komplex kleiner Zellen, deren Membranen stärker angefärbt werden als die der übrigen Parenchymzellen; wahrscheinlich enthalten sie mehr Gerbstoffe. Dieser Komplex ist frei vom Endophyten und drängt selbst das infizierte Parenchym zur Seite. Beim Vordringen der Seitenwurzelanlage ist die mitwachsende Endodermis der Mutterwurzel immer deutlich als Grenzschicht zwischen dem primären Rindenparenchym der Mutterwurzel und dem sekundären Gewebe der Seitenwurzelanlage zu erkennen. Die neugebildeten Endodermiszellen setzen sich durch ihren geringen Gerbstoffgehalt scharf von den alten ab. Besonders an der Übergangsstelle scheinen die neugebildeten Endodermiszellen wenig Gerbstoffe zu enthalten. Wichtig ist hierzu der Vergleich mit einer normalen Seitenwurzelanlage, denn auch bei diesen ist in einem gewissen Altersstadium eine solche gerbstoffarme Zone vorhanden (Abb. 7). Bei einer normalen Seitenwurzelanlage einer nichtinfizierten Wurzel ist die Kalyptra deutlich ausgeprägt. Ihre äußeren Zellschichten sind durch Gerbstoffe und anthocyanfarbige Stoffe dunkel gefärbt. Bei einer bestimmten Größe der Seitenwurzelanlage reichen diese stark imprägnierten Zellschichten nicht bis an die alten Endodermiszellen der Mutterwurzel heran, während bei älteren Seitenwurzeln diese Lücke wieder geschlossen ist. In einem gewissen Altersstadium der Seitenwurzelanlagen bleibt also an ihrer Basis ein Ring von einigen Zellen Breite eine Zeitlang frei von Gerbstoffen. Diese Zone findet sich, allerdings nicht so ausgeprägt, auch bei den Seitenwurzelanlagen unter dem infizierten Rindenparenchym. Hier ist diese Zone von Bedeutung für die Infektion der Seitenwurzelanlage durch den Endophyten aus dem infizierten Rindenparenchym der Mutterwurzel heraus. *Nur an diesen Stellen konnte das Einbrechen des Endophyten in das sekundäre Gewebe der Seitenwurzelanlage beobachtet werden.* In Abb. 6 sind diese Stellen durch Pfeile markiert. Der Endophyt ist an diesen Stellen bis an die Grenzschicht der Seitenwurzelanlagen vorgedrungen und im Begriffe, diese zu durchbrechen. Sobald er in die Seitenwurzelanlage eingedrungen ist, breitet er sich nach allen Seiten aus. Die Seitenwurzelanlage kann nun als Knöllchenanlage bezeichnet werden.

Es ist schwierig, einen eindrucksvollen Medianschnitt durch eine Seitenwurzelanlage zu treffen, der gleichzeitig das Eindringen des Endophyten von der primären Rinde aus zeigt. Aus der räumlichen Rekonstruktion der Knöllchenanlage ergibt sich, daß der Einbruch des Endo-

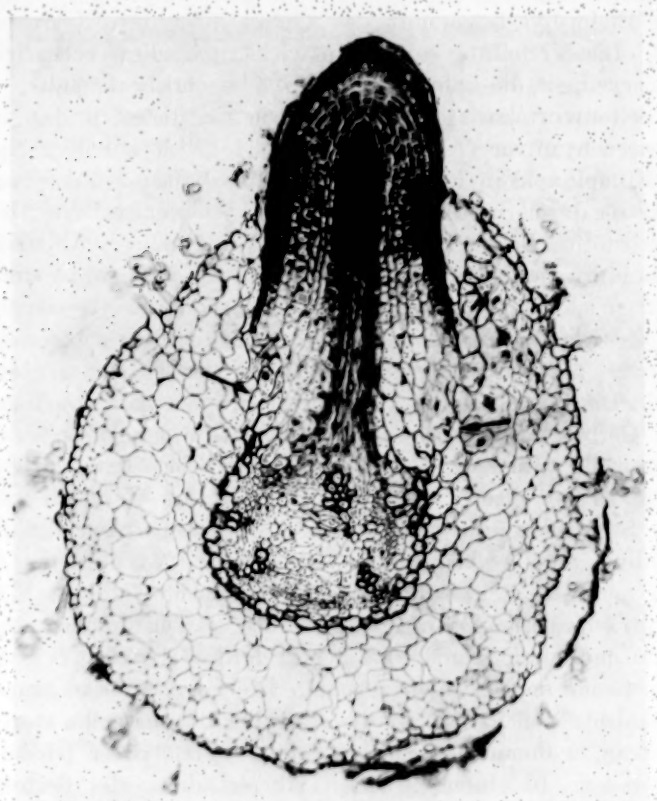

Abb. 7. Seitenwurzelanlage einer nichtinfizierten Wurzel. Die Pfeile deuten auf die gerbstoffarme Zone an der Basis der Seitenwurzelanlage. Vergr. 150:1

phyten in die Knöllchenanlage aus der primären Rinde heraus nur auf ein relativ schmales Gebiet beschränkt bleibt. Das ist verständlich, denn das Stadium, in dem die Knöllchenanlage infiziert werden kann, ist nur von kurzer Dauer, da die gerbstoffarme Zone an der Basis der Seitenwurzelanlage nach der Infektion bald geschlossen wird und vom Endophyten nicht mehr durchdrungen werden kann. Außerdem ist die Infektion von Natur aus nur in einer schmalen Zone möglich. Und dazu kommt noch, daß die Infektion der Seitenwurzelanlage an irgendeiner beschränkten Stelle des Umfanges in dieser schmalen Zone stattfindet.

Bei Querschnitten durch die Mutterwurzel wird der Kegel der Seitenwurzelanlage gleichzeitig in Längsscheiben zerlegt. Es ist nun mehr oder weniger ein Spiel des Zufalles, wenn der Endophyt genau an der Seite der Seitenwurzelanlage eindringt und diese Stelle auch in ihrem Medianschnitt getroffen wird. Meist findet man den Endophyten dicht an der Grenzschicht der Seitenwurzelanlage oder er ist schon in sie eingedrungen und hat sich in ihr ausgebreitet.

Mit dem Einbruch des Endophyten in das sekundär gebildete Gewebe der Knöllchenanlage ist ihm aber nicht gleichzeitig der Weg in den Zentralzylinder der Mutterwurzel geöffnet, wie man bei Betrachtung der Abb. 6 vermuten könnte. Denn gleichzeitig mit dem Einbruch des Endophyten in die Seitenwurzelanlage wird um deren Zentralzylinder eine Endodermis gebildet, die Anschluß an die Endodermis der Mutterwurzel findet. Der Weg zum Zentralzylinder von Mutterwurzel und Knöllchenanlage ist dem Endophyten also versperrt, er kann lediglich spitzenwärts dem Vegetationspunkt der Knöllchenanlage hinterherwachsen. Während er dort laufend neue Zellen infiziert, wird er von der Basis des Knöllchens her allmählich verdaut. Damit ist das Wechselspiel zwischen Endophyt und Erlenwurzel zustande gekommen — die Knöllchenanlage ist zum Knöllchen geworden.

Abschließend soll noch auf die Frage nach der äußeren Abgrenzung des Knöllchengewebes eingegangen werden. Nach Pommer bildet sich um das gesamte infizierte Parenchym ein Periderm. Dieses Periderm zieht sich zwischen infiziertem und nichtinfiziertem Parenchym zum Zentralzylinder der Mutterwurzel, überkreuzt deren Endodermis und läuft unter dieser als „Perizykelperiderm" um den Zentralzylinder herum. Dieses Periderm umschließt also den Zentralzylinder der Mutterwurzel, die Seitenwurzelanlage(n) und das gesamte infizierte Parenchym. Nach Pommer wird das infizierte Rindenparenchym der Mutterwurzel mit in das Knöllchen einbezogen. Dies verhält sich nach den Ergebnissen meiner Untersuchungen anders. Die Zellschicht, die als Fortsetzung der Endodermis der Mutterwurzel erscheint (Abb. 8), grenzt das Knöllchengewebe gegen das Parenchym der Mutterwurzel ab. Denn bald nach dem Einbruch des Endophyten in die Seitenwurzelanlage wird die gerbstoffarme Zone an deren Basis durch Imprägnierung mit Gerbstoffen für den Endophyten geschlossen. In Abb. 8 deutet der Pfeil auf die Stelle, an der sich die Endodermis des Knöllchenzentralzylinders, die Endodermis der Mutterwurzel und die Grenzschicht des Knöllchengewebes treffen. Gleich über dieser Stelle kommt die abgrenzende Funktion dieser Zellage zur Geltung. Wenn der Endophyt in die Knöllchenanlage eingedrungen ist, umwächst er den Zentralzylinder und breitet sich im Knöllchengewebe aus. Von diesem kann er jedoch nicht wieder zurück in die primäre Rinde wachsen, denn inzwischen ist für ihn die Grenzschicht

durch Gerbstoffeinlagerungen zu einer unüberschreitbaren Barriere geworden. Die einzige Ausbreitungsmöglichkeit besteht jetzt nur noch in Richtung der Knöllchenspitze. Die Grenzschicht, die nicht als Peri-

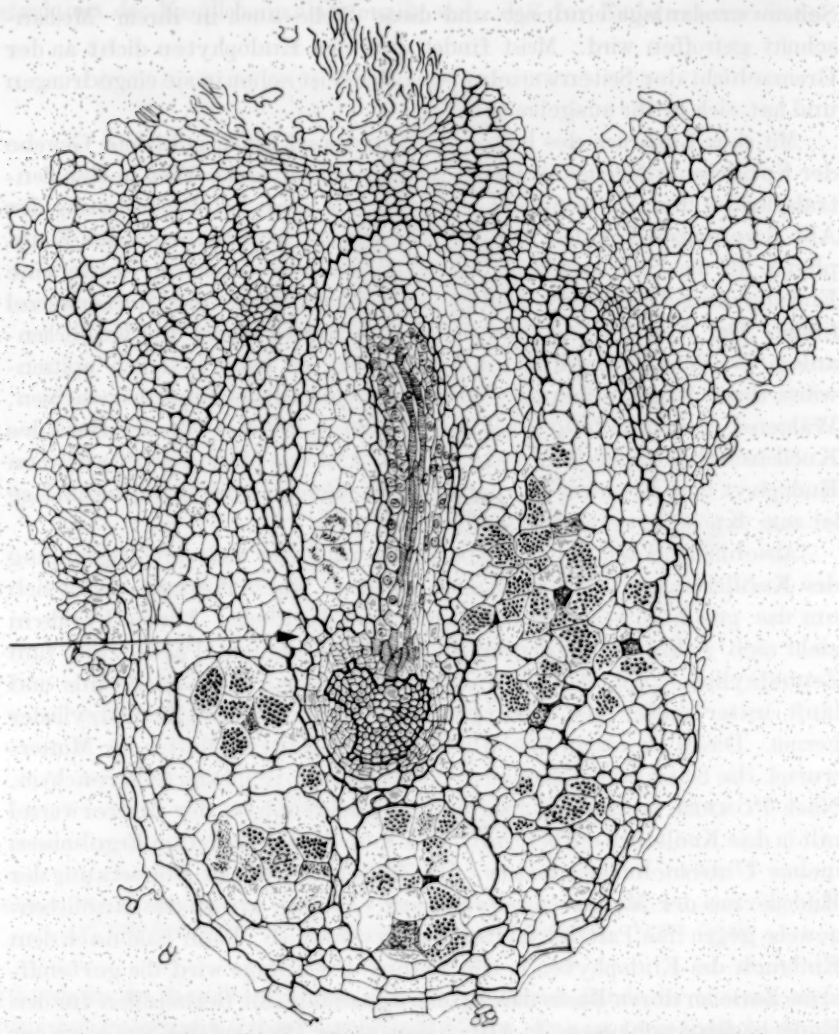

Abb. 8. Junges, ausgebildetes Knöllchen. Bei (→) treffen sich die Grenzschicht des Knöllchengewebes, die Endodermis des Knöllchenzentralzylinders und die Endodermis der Mutterwurzel. Über dem Knöllchen an der Oberfläche der Mutterwurzel starke Peridermbildung. Vergr. 90:1

derm bezeichnet werden kann, scheidet prinzipiell das primäre Rindengewebe der Mutterwurzel von dem sekundären Knöllchengewebe. *Sie ist keine prinzipielle Grenze zwischen infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe.*

Beim weiteren Wachstum des Knöllchens wird das primäre Rindengewebe der Mutterwurzel zur Seite gedrängt. Soweit es befallen ist, geht

der Endophyt in diesem Gewebe in die Involutionsform (Bläschenstadium) über und wird allmählich verdaut. An der Oberfläche des auswachsenden Knöllchens bildet sich ein mehrschichtiges Periderm mit großen Lentizellen. Das Periderm über den Knöllchenanlagen ist sehr aktiv und bildet teilweise mächtige Zellmassen (Abb. 1 und 8). Auch hier konnte ich nie beobachten, daß das Periderm zwischen infiziertem und nichtinfiziertem Gewebe scheidet oder irgendwie in die Tiefe dringt.

Pommer hat zwischen der Infektion des primären Rindengewebes der Mutterwurzel und der Infektion der hervorwachsenden Seitenwurzelanlage nicht scharf unterschieden. Da er außerdem das infizierte Rindengewebe der Mutterwurzel mit in das Knöllchen einbezogen hat, kam er zu dem Schluß, daß die Knöllchen zuerst von der Mutterwurzel aufgebaut würden. Erst wenn die Knöllchenanlage die Rinde der Mutterwurzel sprengt, soll der weitere Aufbau des Knöllchens von seinem Vegetationspunkt übernommen werden. Nach meinen Beobachtungen entspricht diese Deutung nicht ganz den entwicklungshistologischen Gegebenheiten. *Das Knöllchen als anatomisch-physiologische Einheit wird ausschließlich von seinem eigenen Vegetationspunkt aufgebaut.* Die ersten Anschwellungen der Erlenwurzeln kurz nach der Infektion, die auf die Reaktionen des primären Rindengewebes zurückzuführen sind, haben mit der eigentlichen Knöllchenbildung nichts zu tun. Das infizierte primäre Rindenparenchym der Mutterwurzel kann auf Grund seines Ursprunges und seiner weiteren Entwicklung *nicht* als Bestandteil des Knöllchens angesehen werden.

Zusammenfassung

1. *Actinomyces alni* Peklo (?), der Erreger der Rhizothamnien bei *Alnus*, dringt durch die Wurzelhaare in die Erlenwurzel ein. Ein Zusammenhang zwischen deformierten Wurzelhaaren und Infektion scheint nicht zu bestehen. Nach den neuesten Arbeiten scheint ein Zweifel an der Actinomycetennatur des Endophyten berechtigt zu sein.

2. Der eingedrungene Endophyt wächst durch die Zellen des primären Rindenparenchyms hindurch auf die Xylemprimanen zu und verbreitet sich hauptsächlich im Rindenparenchym über diesem Gebiet. In den Zentralzylinder kann der Endophyt nicht eindringen.

3. Die infizierten Parenchymzellen und ein gewisser Einflußbereich im benachbarten nichtinfizierten Parenchym reagieren mit Hypertrophie und Hyperplasie. Die Reaktion ist in der Längsrichtung der Wurzel stärker als in der tangentialen Richtung. Die Teilungen des Parenchyms führen *nie* zu einer Knöllchenbildung.

4. Unter dem infizierten primären Rindenparenchym wächst aus dem Perizykel eine Seitenwurzelanlage hervor. Diese wird in einem bestimmten Stadium aus der primären Rinde der Mutterwurzel heraus mit dem Endophyten infiziert. Die Seitenwurzelanlage wird hierdurch zur Knöllchenanlage. Es ist nicht geklärt, ob die Seitenwurzelanlage vom

Endophyten induziert wird oder unabhängig von ihm entsteht und nur zufällig zum Knöllchen wird.

5. Das Wurzelknöllchen als anatomisch-physiologische Einheit wird ausschließlich von seinem eigenen Vegetationspunkt aufgebaut.

6. Das infizierte primäre Rindenparenchym der Mutterwurzel kann nicht als Bestandteil des Knöllchens angesehen werden. Die Infektion, die zur Knöllchenbildung führt, geschieht in zwei Stufen. Zuerst werden durch ein oder mehrere Wurzelhaare hindurch Parenchymzellen der Rinde infiziert. Dann erfolgt von dort aus die Infektion einer Seitenwurzelanlage, die das infizierte Rindenparenchym durchbricht. Nach dieser zweiten Stufe entwickelt sich die Seitenwurzelanlage zum Knöllchen.

Literatur

Arcularius, J.: Zytologische Untersuchungen an einigen endotrophen Mykorrhizen. Zbl. Bakter. II. **74**, 191 (1928). — Brunchorst, J.: Über einige Wurzelanschwellungen, besonders diejenigen von Alnus und den Elaeagnaceen. Unters. bot. Inst. Tübingen **2**, 151 (1886/88). — Frank, A.: Über die auf Verdauung von Pilzen abzielenden Symbiosen an mit endotropher Mykorrhiza begabten Pflanzen, sowie der Leguminosen und Erlen. Ber. dtsch. bot. Ges. **9**, 244 (1891). — Guttenberg, H. v.: Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. 8, S. 316. 1940. — Hawker, L., and I. Fraymouth: A reinvestigation of the root-nodules of the species of Elaeagnus, Hippophae, Alnus and Myrica, with the special reference to the morphology and the life histories of the causative organisms. J. Gen. Microbiol. **5**, 369 (1951). — Hiltner, L.: Über die Bedeutung der Wurzelknöllchen von Alnus glutinosa für die Stickstoffernährung dieser Pflanze. Landwirtsch. Versuchsstat. **46**, 153 (1896). — Krebber, O.: Untersuchungen über die Wurzelknöllchen der Erle. Arch. Mikrobiol. **3**, 588 (1932). — Lieske, R.: Morphologie und Biologie der Strahlenpilze. Leipzig 1921. — Meyen: Über das Hervorwachsen parasitischer Gebilde aus den Wurzeln anderer Pflanzen. Flora (Regensburg) **12**, 49 (1829). — Möller, H.: Beiträge zur Kenntnis von Frankia subtilis Brunchorst. Ber. dtsch. bot. Ges. **8**, 215 (1890). — Peklo, J.: Die pflanzlichen Actinomycosen. Zbl. Bakter. II **27**, 451 (1910). — Plotho, O. v.: Die Synthese der Knöllchen an den Wurzeln der Erlen. Arch. Mikrobiol. **12**, 3 (1942). — Pommer, E. H.: Beiträge zur Anatomie der Wurzelknöllchen von Alnus glutinosa (Gaertn.). Diss. Braunschweig 1955. — Quispel, A.: Symbiotic nitrogen-fixation in non-leguminous plants. Acta bot. neerl. **3**, 495 (1954). — Rohberg, M.: Weitere Untersuchungen über die Stickstoffernährung der Erle. Ber. dtsch. bot. Ges. **52**, 54 (1934). — Schacht, H.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Wurzel. Flora (Regensburg) **36**, 258 (1853). — Schaede, R.: Über die Symbionten in den Knöllchen der Erle und des Sanddorns und die cytologischen Verhältnisse in ihnen. Planta (Berl.) **19**, 389 (1933). — Die pflanzlichen Symbiosen. Jena 1943; 2. Aufl. 1948. — Shibata, K.: Cytologische Studien über die endotrophen Mykorrhizen. Jb. wiss. Bot. **37**, 643 (1902). — Wartenberg, H.: Histologische Studien über Blutlausgallen, Blutlausabwehrnekrosen, Parenchymholzbinden und Markflecke bei Malussorten. Wiss. Z. Friedr.-Schiller-Univ. Jena **3** (1953/54). — Wolpert, M.: Vergleichende Anatomie und Entwicklungsgeschichte von Alnus alnobetula und Betula. Flora (Jena) **100**, 37 (1910). — Zimmermann, A.: Sammelreferate über die Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze. Zbl. Bakter. II **70**, 261, 411 (1927).

Dr. Hans Taubert, Jena, Inst. f. Allgemeine Botanik, v.-Hase-Weg 3

Planta, Bd. 48, S. 157—189 (1956)

Aus der Abteilung Botanik an der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE PHYSIOLOGIE DER ADVENTIVWURZELBILDUNG

II. Mitteilung

DIE KORRELATIVE BEEINFLUSSUNG DER ADVENTIVWURZELBILDUNG DURCH ANDERE ORGANE, INSBESONDERE DURCH DIE WURZEL

Von

EIKE LIBBERT

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. Juli 1956)

Die Bildung von Adventivwurzeln wird von einer Reihe innerer Faktoren gesteuert. Die Gesamtheit derselben sei mit LIBBERT (1956a) in Anlehnung an WENT (1939a, b, c) als Rhizokalinkomplex bezeichnet. In einer vorangegangenen Arbeit (LIBBERT 1956a) konnten folgende Komponenten des Rhizokalinkomplexes als in der Achse von *Pisum*-Keimpflanzen befindlich untersucht werden: Erstens Auxin, das in doppelter Weise die Wurzelbildung beeinflußt, einmal in Kombination mit einem zweiten Faktor, dem Faktor X, und zum anderen allein ohne diesen Faktor; zweitens der eben genannte Faktor X, der transportabel ist und bei Isolierung vorwiegend apikal im Internodium angereichert ist; drittens ein strukturgebundener Gradient, der auf das physiologische Alter des regenerierenden Gewebes zurückgeführt wurde.

Die bevorzugt apikale Anreicherung des Faktor X läßt vermuten, daß er aus nodialen Organen, d. h. aus Knospen oder aus Blättern stammt. Letzteres ist nicht wahrscheinlich, da in der erwähnten Arbeit mit solchen Internodien gearbeitet wurde, die vor der Isolierung keine Laub-, sondern schuppenförmige Niederblätter besaßen, die zudem noch etioliert waren.

Die vorliegende Arbeit gilt der Untersuchung des Einflusses, den andere Organe, zunächst Seiten- und Gipfelknospen, dann aber besonders die Wurzel auf die Adventivwurzelbildung nehmen.

Über den Einfluß von Knospen auf die Wurzelbildung liegt zahlreiche Literatur vor, auf die im Abschnitt Diskussion eingegangen wird. Über den Einfluß der Wurzel ist weniger gearbeitet worden, da er zunächst recht simpel erscheinen muß: Da bei vielen Objekten Adventivwurzeln erst dann auftreten, wenn der zu untersuchende Pflanzenteil von seinem Wurzelsystem isoliert wird, übt letzteres eine

Hemmung auf die Entstehung von Adventivwurzeln aus. Das wird meist damit erklärt, daß bei Isolierung eines Stecklings sich an dessen basaler Schnittfläche wurzelbildende Substanzen (Auxin oder „Rhizokalin") stauen, die vorher in die Wurzel abgeleitet oder von der Wurzel verbraucht wurden. Zweifellos trifft dies zu, aber (vgl. LIBBERT 1956b) diese Erklärung reicht zur Deutung mancher Tatsachen nicht aus. — Im Zusammenhang damit, daß (LIBBERT 1954, 1955c, d) die Wurzel als bevorzugter Hemmstoffbildungsort charakterisiert werden konnte, wird in dieser Arbeit geprüft, ob die Wurzel mittels spezifischer Hemmstoffe die Adventivwurzelbildung verhindere.

Es sei vorweggenommen, daß diese Vermutung bestätigt wird. Mehrere Ergebnisse der Abschnitte I und II deuten darauf hin, und die Ergebnisse des Abschnittes III beweisen es.

Methodik

Objekte waren etiolierte Pflanzen von *Pisum sativum*; wenn nicht anders angegeben, Sorte „*Senator*". Betreffs Anzucht vgl. LIBBERT (1956a). Bei den Versuchen des Abschnitts I war die Methode dieselbe wie 1956a: Bewurzelung auf Saccharose-Sand in Petri-Schalen; nur mit dem Unterschied, daß nicht isolierte Internodien, sondern solche mit Knospen, mit Hypokotyl usw. verwendet wurden.

Die Versuche der Abschnitte II und III erfolgten in Anlehnung an CASTAN (1940): Junge Keimpflanzen, deren zweites (oder drittes) Internodium (vom Keimblatt an aufwärts gezählt) das Streckungswachstum abgeschlossen hatte, wurden unter dem ersten (oder zweiten) Knoten dekapitiert und die Wurzel wurde vollständig entfernt. Knospen wurden entfernt oder belassen. Die Objekte wurden einzeln invers (mit der apikalen Schnittfläche nach unten) durch Pappscheiben in je ein Reagensglas gehängt. Die Gläser enthielten Leitungswasser, in dem eventuell zu untersuchende Wirkstoffe gelöst waren. Nährstoffe (Zucker) wurden nicht verwendet, da die Objekte von den Kotyledonen her ernährt wurden. Zur Bewurzelung kamen die Gläser in Brutschränke (27° C, dunkel). Entstehende Adventivwurzeln wurden zeitlich und örtlich (Entfernung von der basalen Schnittfläche) notiert und dann entfernt; die weitere Bewurzelung wurde täglich verfolgt. Abänderungen dieser Grundversuchsanordnung werden in den einzelnen Abschnitten erwähnt. Eine Durchlüftung der Lösungen fand nicht statt, vgl. THIMANN und POUTASSE (1941): Durchlüftung fördert die Wurzelbildung nicht, höchstens das Wachstum von Mikroorganismen, und wirkt dadurch störend. Daß bei Anwendung dieser Methode die Objekte invers zur Schwerkraft angeordnet waren, hat auf den Verlauf der Adventivwurzelbildung keinen Einfluß (LIBBERT 1956d).

Auf die große Streuung der Einzelwerte muß hier wie 1956a hingewiesen werden. Die statistische Kontrolle jedes Ergebnisses war deshalb notwendig. Sie erfolgte bei Angaben über Bewurzelungszahlen (Wurzeln je Pflanze oder je 10 Pflanzen) meßreihenstatistisch im t-Test, gemeinsame Sicherung mehrerer Versuche geschah über χ^2 nach PÄTAU (1943). Bei Angaben über Bewurzelungsprozente (Zahl der bewurzelten Objekte in Prozenten) geschah die Signifikanzprüfung nach der χ^2-Methode.

Auxinanalysen erfolgten im geotropischen *Pisum*-Krümmungstest (LIBBERT 1955e). Die nachgewiesene Auxinmenge wird in t'-Einheiten angegeben; das ist eine willkürlich festgelegte Einheit (LIBBERT 1955e), die bei standardisiertem mittleren Fehler zugleich eine Signifikanzangabe ist: $t' < 1$ bedeutet eine Auxin-

förderung, die mit $P > 0{,}05$ innerhalb der Zufallsgrenze liegt; $t' > 1{,}6$ ist eine Auxinwirkung, die mit $P < 0{,}0027$ signifikant ist.

I. Versuche an Objekten ohne Keimblätter (Petri-Schalenversuche)

Das Auswachsen der am ersten Internodium vorhandenen Wurzelanlagen (SCHMIDT 1956) folgte in seiner Abhängigkeit von der experimentell gebotenen IES-Konzentration[1] einer Optimumkurve: Das Optimum lag bei 10^{-7} g/cm³ (LIBBERT 1956a, Tabelle 1, isolierte Internodien).

Tabelle 1. *Isolierte 1. Internodien mit Knoten und Knospe.* IES-Gabe: 20 Std. Mittelwerte von 8 Versuchen. Alle Differenzen sind insignifikant

	IES-Konzentration					
	0	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}
Bewurzelung in Prozenten	51,6	51,5	48,0	52,9	52,2	52,4

Werden dagegen nicht isolierte Internodien verwendet, sondern solche, die außerdem noch (apikal) den ersten Knoten mit der Knospe enthalten (die dann während der Versuchsdauer schwach austreibt), wird keine Förderung durch die entsprechenden IES-Konzentrationen erreicht (Tabelle 1). *Das heißt, daß der Knoten mit Knospe den IES-Einfluß ersetzt*, also als Auxinlieferant auftritt, und zwar in einer Konzentration, die einer experimentell zugeführten von 10^{-7} etwa äquivalent ist. Aus

Tabelle 2. *Isolierte 1. Internodien mit Knoten ± Knospe.* IES-Gabe: täglich. Mittelwerte aus 2 Versuchen

	Ohne Knospen ohne IES	Ohne Knospen IES 10^{-7}	Mit Knospen ohne IES	Mit Knospen IES 10^{-7}
Wurzeln je 10 Pflanzen . . .	18,1	23,6	22,7	25,1
Bewurzelung in Prozenten . .	33	59	54	56
	$P = 0{,}004$			

Tabelle 2 geht dasselbe hervor, außerdem zeigt diese Tabelle, daß hier ein zweiter Knospeneinfluß von anderer als Auxinnatur nicht erweisbar ist.

Bei höheren IES-Konzentrationen, wo nicht das Auswachsen vorgebildeter Wurzelanlagen, sondern die Wurzelbildung de novo ihr Maximum hat (LIBBERT 1956a), ist auch bei Vorhandensein von Knospen ein deutlicher IES-Effekt zu verzeichnen (Tabelle 3). Das ist erwartungsgemäß: Es wird niemand annehmen, daß

Tabelle 3. *Isolierte 1. Internodien mit Knoten und Knospe.* IES-Gabe: 20 Std. 1 Versuch

	IES-Konzentration			
	0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Wurzeln je 10 Pflanzen	15,6	20,7	47,0	54,8
P-Wert gegen Kontrolle (gegen 15,6)		0,33	0,0004	

[1] IES = Indol-3-essigsäure.

die Knospe so hohe Auxinkonzentrationen liefert, die einer experimentell zugeführten von 10^{-5} bis 10^{-4} g/cm³ äquivalent sind.

Im isolierten Internodium liegt (LIBBERT 1956a) ein Bewurzelungsfaktor, der Faktor X vor. Offensichtlich im Zusammenhang damit tritt

Tabelle 4. *Isolierte 1. Internodien.* IES-Gabe: 20 Std. Mittelwerte von 14 Versuchen. Zahlen: Länge der Internodien in Millimeter

	IES-Konzentration							
	0	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Bewurzelte Internodien . .	32,8 ± 0,6	31,3	31,1	29,9	30,6	31,5	31,3	31,4
Unbewurzelte Internodien .	27,0 ± 0,7	26,7	29,1	28,8	27,7	27,1	29,5	28,5
P-Wert	< 0,0002							

eine Abhängigkeit der Bewurzelungsfähigkeit isolierter Internodien von ihrer Länge auf: Tabelle 4, der das in der I. Mitteilung verarbeitete Material zugrunde liegt, zeigt, daß die bewurzelten Internodien signifikant länger sind als die unbewurzelten (die Länge der Internodien schwankte zwischen den Extremwerten 17 und 54 mm). Durch IES wird dies Verhältnis nicht aufgehoben, die Wirkung der Internodienlänge beruht also nicht (allein) auf höherem Auxingehalt längerer Internodien.

Tabelle 5. *Wie Tabelle 4, aber isolierte Internodien mit Knoten und Knospe.* Mittelwerte aus 8 Versuchen

	IES-Konzentration		
	0	10^{-7}	10^{-6}
Bewurzelte Internodien . .	52,3	51,2	50,4
Unbewurzelte Internodien .	49,3	50,8	50,4
P-Wert	0,0003		

Führt man dieselbe Untersuchung an knospenhaltigen Internodien durch, so zeigt sich, daß die Knospen allein den Längeneffekt nicht aufheben können; aber gemeinsam mit IES ist das der Fall (Tabelle 5). Der Längeneffekt scheint also bifaktoriell zu sein; zumindest *der eine, nicht mit IES identische Faktor kann auch von den Knospen geliefert werden* (s. S. 181).

In einigen Versuchen wurde der Einfluß des kurzen Hypokotyls untersucht (Tabelle 6). *Das Vorhandensein des Hypokotyls hemmt die Wurzelbildung*, die Hemmung läßt sich durch Belassen der Kotyledonar-

Tabelle 6. *1. Internodien ± Hypokotyl, ± Kotyledonarknospe, ± Keimblattstiele, ± Keimblätter.* Mittelwerte aus 3 Versuchen. Zahlen: Bewurzelte Internodien in Prozenten

1. Internodium	43	$P = 0{,}003$
1. Internodium + Hypokotyl	4	
1. Internodium + Hypokotyl + Keimblattknospen . . .	29	$P = 0{,}009$
1. Internodium + Hypokotyl + Keimblattknospen + Keimblattstiele	25	$P < 0{,}0002$
1. Internodium + Hypokotyl + Keimblattknospen + ganzes Keimblatt	93	

knospen zum Teil, durch Vorhandensein der Kotyledonen völlig aufheben. Das ist der erste Hinweis auf hemmende Einflüsse, die von den Teilen basal des Epikotyls ausgehen.

II. Versuche mit Kotyledonen (Reagensglasversuche)

1. Der Wellenverlauf der Adventivwurzelbildung

Verfolgt man an einem dekapitierten Internodium (ganz gleich, ob Knospen vorhanden sind oder nicht), das keine Wurzeln enthält und von

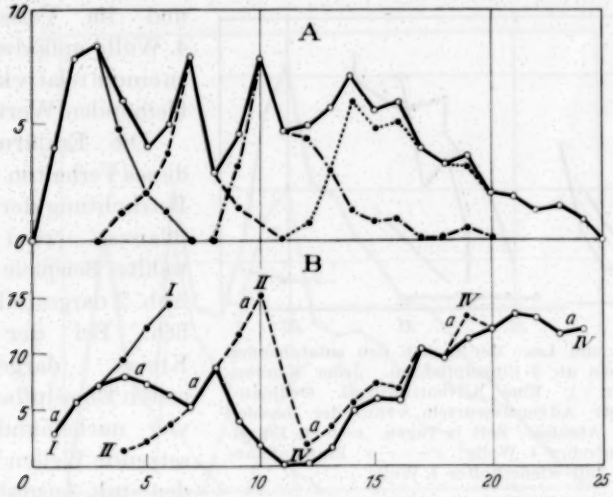

Abb. 1 A u. B. Zahl und Lage der täglich neuentstehenden Adventivwurzeln bei Internodien mit Kotyledo und Knospe. Mittelwerte aus einem Versuch mit 40 Pflanzen. Abszisse: Zeit in Tagen. A Zahl der täglich entstehenden Wurzeln. Ordinate: Wurzeln je 10 Pflanzen. ○——○ Wurzeln gesamt; ●——● 1. Welle; ●- - - -● 2. Welle; ●—·—·—● 3. Welle; ●·····● 4. Welle. B Durchschnittlicher Ort der täglich entstehenden Wurzeln. Ordinate: Mittlere Entfernung von der basalen Schnittfläche in Millimeter; ○——○ Wurzeln gesamt; $\overset{a}{\circ}$——- - -——$\overset{a}{\circ}$ Wurzeln gesamt, aber unter Fortlassung der Nullwurzeln; $\overset{I}{\circ}$——$\overset{I}{\bullet}$ 1. Welle; $\overset{II}{\bullet}$- - -$\overset{II}{\bullet}$ 2. Welle; $\overset{IV}{\circ}$···$\overset{IV}{\circ}$ 4. Welle

den Keimblättern aus ernährt wird, die Zahl der täglich entstehenden Adventivwurzeln (Abb. 1 A), so findet man vier deutliche Maxima der Wurzelbildung, die periodisch in einem Abstand von etwa 3 Tagen auftreten. Während der ersten beiden Maxima entstehen die Adventivwurzeln vorwiegend in basalen Teilen des Internodiums, aber nicht unmittelbar an der basalen Schnittfläche. Erst mit dem 3. Maximum geht eine starke Wurzelbildung an der Schnittfläche einher, die dann abklingt und während des 4. Maximums wieder durch Adventivwurzelbildung ersetzt wird, die, von der Basis beginnend, das Internodium langsam apikalwärts steigt.

Im folgenden werden die durch die vier Maxima gekennzeichneten Bewurzelungswellen kurz als „Wellen" (erste bis vierte Welle) bezeichnet.

Diese Verhältnisse gehen aus Abb. 1 B hervor, die die mittlere Entfernung der täglich entstehenden Wurzeln von der basalen Schnittfläche (stark ausgezogene Kurve) angibt. Man sieht, daß die Bewurzelung ziemlich basal beginnt, während der 1. Welle apikalwärts ansteigt, dann mit Einsetzen der 2. Welle wieder basalwärts verlagert wird, um auch im Verlaufe der 2. Welle apikalwärts anzusteigen. Mit Einsetzen der 3. Welle (Wurzeln an der Schnittfläche!) nähert sich die Bewurzelung wieder stark der Basis und steigt schließlich mit Einsetzen und im Verlauf der 4. Welle apikalwärts bis zu einem relativkonstant bleibenden Wert an.

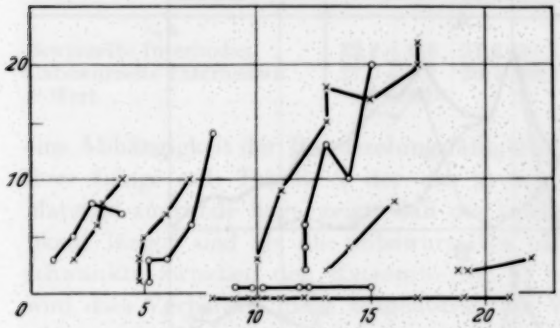

Abb. 2. Zahl und Lage der täglich neu entstehenden Adventivwurzeln an 2 Einzelpflanzen. Jeder Kurvenpunkt (o oder ×): Eine Adventivwurzel. Ordinate: Abstand dieser Adventivwurzeln von der basalen Schnittfläche. Abszisse: Zeit in Tagen. o—o—o Einzelpflanze mit einfacher 4. Welle; ×—×—× Einzelpflanze mit wiederholter 4. Welle

Die Erklärung für dieses Verhalten wird bei Betrachtung der Einzelpflanzen (zwei ausgewählte Beispiele sind in Abb. 2 dargestellt) deutlich. Bei der durch Kreise dargestellten ersten Einzelpflanze sind vier nacheinander einsetzende Wellen vorhanden; mit Ausnahme der 3. beginnt jede in der Nähe der Basis und steigt langsam apikalwärts. Mit Einsetzen der nächsten, wieder basal beginnenden Welle hört die vorhergehende auf. Lediglich die 3. Welle beschränkt sich auf die extreme Basis, sie hört nicht auf, wenn die 4. Welle beginnt. Entsprechende Verhältnisse lassen sich an jeder Pflanze finden; nur sind bei den einzelnen Individuen die Wellen nicht strikt synchronisiert. Deshalb kommt es in Abb. 1 B nicht zu schroffer basaler Verlagerung zwischen den einzelnen Wellen wie in Abb. 2, sondern zu allmählicher Verlagerung.

Im folgenden werden bei allen Versuchen die Wurzeln auf die einzelnen Wellen verteilt. Das macht keine Schwierigkeiten bei der 3. Welle, da zu dieser alle Wurzeln gehören, die direkt an der basalen Schnittfläche entstehen, und die im folgenden auch als 0-Wurzeln bezeichnet werden. Ebenso leicht ist die Abtrennung der 4. Welle, da sie nach der 3. einsetzt und sich von dieser durch die Lokalisierung ihrer Wurzeln unterscheidet. Nicht ganz so einfach ist die Trennung zwischen 1. und 2. Welle; diese ist nur auf Grund sorgfältiger Prüfung der Einzelpflanzen möglich. (Vgl. aber die leichte experimentelle Möglichkeit, 1. und 2. Welle zu trennen: Abb. 4.)

Führt man die Aufteilung in die einzelnen Wellen an dem in Abb. 1 dargestellten Versuch durch, dann erhält man die in Abb. 1 eingetragenen Ergebnisse. Die dünnen Linien in Abb. 1 A lassen erkennn,e daß jede

Welle ein Maximum der Gesamtwurzelbildung hervorruft; die dünnen Linien der Abb. 2B zeigen, daß die durchschnittliche Entfernung der Wurzeln jeder einzelnen Welle von der basalen Schnittfläche während des Ablaufs der Welle ständig zunimmt. Aus beiden Abbildungen (1A und B) ist ersichtlich, wie sich die einzelnen Wellen überlappen.

Das Beispiel der zweiten Einzelpflanze der Abb. 2 (durch Kreuze markiert) zeigt, daß die als 4. Welle zusammengefaßten Wurzeln eventuell in mehrere Wellen zerlegt werden können. Das ist erstens nicht bei

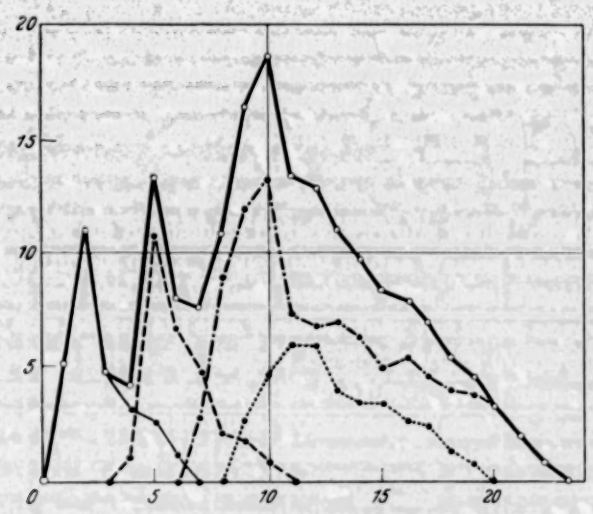

Abb. 3. Wie Abb. 1A, aber ein ausgewählter Versuch mit extrem schlechter Trennung der Maxima der einzelnen Wellen

allen Pflanzen der Fall, und zweitens fehlt dabei jegliche Synchronisation zwischen den verschiedenen Pflanzen eines Versuchs, so daß eine Aufteilung der 4. Welle nicht vorgenommen wurde. Es hat den Anschein, als ob während der „4. Welle" ständig neue Bewurzelungsimpulse von der basal ablaufenden 3. Welle ausgingen, die jeder für sich das Internodium apikalwärts durchziehen. Das ist der Grund dafür, daß die mittlere Entfernung der Adventivwurzeln von der Basis (Abb. 1B) während der 4. Welle schließlich ein Maximum erreicht, das über längere Zeit konstant bleibt.

Nicht immer ist eine so klare Trennung der einzelnen Maxima zu finden wie in dem in Abb. 1 dargestellten Versuch. Häufig überlappen sich die Maxima und kann eines von ihnen ganz verdeckt bleiben, wie an dem Beispiel der Abb. 3 ersichtlich, die einen Versuch mit ausgesprochen schlechter Abtrennung der einzelnen Wellen voneinander darstellt.

Im allgemeinen liegen die Wellenmaxima folgendermaßen: 1. Welle: 3. Tag; 2. Welle: 6. Tag; 3. Welle: 9. Tag; 4. Welle: 12. Tag. Bei einzelnen Pflanzen kann zuweilen eine Welle ausfallen.

Die geschilderten Verhältnisse wurden bei den Erbsensorten: „*Senator*", „*Wunder von Kelvedon*", „*Überreich*" und „*Allerfrüheste Mai*" festgestellt. Über das aufschlußreiche, abweichende Verhalten der Sorte „*Saxa*" s. Abschnitt IV.

2. Der Einfluß von End- und Seitenknospen

Der Einfluß von Knospen auf die Adventivwurzelbildung ist in Tabelle 7 dargestellt.

Bei Pflanzen mit Endknospen (Versuche 7—10 der Tabelle 7) wurden die Objekte nicht dekapitiert, sondern mit der wachsenden Spitze in die Gläser gehängt. Die Sproßspitzen krümmten sich dann allmählich geotropisch auf und wuchsen aus dem Wasser heraus. Das Wachstum dieser „Unterwasser"-Sproßspitzen war gehemmt, sicherlich war auch die Wirkstoffproduktion dieser Endknospen nicht normal (s. S. 169). Seitenknospen trieben bei dieser Versuchsanordnung (Endknospen unter Wasser) nicht aus.

Tabelle 7. *Einfluß von End- und Seitenknospen auf die Adventivwurzelbildung.* Sproßstümpfe ohne Wurzeln. 10 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.			1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1—2	ohne Kotyledonarknospen ohne Endknospen	ohne 1. Knospen mit 1. Knospen *P*	23 22	14 27 0,001	38 61 0,0003	1 29 <0,0002	76 139
3—4	ohne 1. Knospen ohne Endknospen	ohne Kotyledonarknospen mit Kotyledonarknospen *P*	29 28	12 12	30 43 0,002	5 5	76 88
5—6	mit Kotyledonarknospen ohne Endknospen	ohne 1. Knospen mit 1. Knospen *P*	22 23	7 37 <0,0002	37 81 <0,0002	2 24 <0,0002	68 165
7	ohne Kotyledonarknospen ohne 1. Knospen	ohne Endknospen mit Endknospen *P*	21 23	10 28 0,0025	25 22	2 11 0,0018	58 84
8—9	mit Kotyledonarknospen mit 1. Knospen	ohne Endknospen mit Endknospen *P*	25 26	35 47 0,07	99 58 <0,0002	29 26	188 157
10	mit Kotyledonarknospen mit Endknospen	ohne 1. Knospen mit 1. Knospen	23 25	50 47	20 19	34 30	127 121

Aus allen Versuchen ist ersichtlich, daß die Adventivwurzelbildung während der 1. Welle nicht beeinflußt werden kann. Die Zahl der zu dieser Welle gehörenden Wurzeln schwankt auch von Versuch zu Versuch weniger als die Zahl aller übrigen Adventivwurzeln.

Gegenüber knospenlosen Pflanzen wird bei Pflanzen mit Sproßknospen eine Förderung der 2. bis 4. Welle erzielt, die Wurzelzahl wird gesteigert (Versuche 1—2). Kotyledonarknospen dagegen fördern nur die 3. Welle,

also die Wurzelbildung direkt an der basalen Schnittfläche, in unmittelbarer Nachbarschaft der austreibenden Kotyledonarknospen (Versuche 3—4). Daraus geht hervor, daß bei dieser Versuchsanordnung der Knospeneinfluß auf die Adventivwurzelbildung *polar* ist, und zwar basipetal. Eine Identität des Knospenfaktors mit Auxin ist demnach möglich. — Selbst die Förderung der 3. Welle durch die Kotyledonarknospen ist noch nicht optimal, da zu den Kotyledonarknospen zusätzlich vorhandene Sproßknospen eine stärkere Förderung dieser Welle ermöglichen (Versuche 5—6).

Wenn keine Seitenknospen vorhanden sind, fördert eine Sproßspitze (Endknospen, Versuch 7) anfangs (2. Welle) etwa ebenso stark wie eine Seitenknospe. Daneben muß aber bei der gegebenen Versuchsanordnung an intakten Pflanzen eine Hemmung durch die schlechtere Wasserversorgung eintreten, während die dekapitierten Pflanzen durch die Schnittfläche Wasser aufnehmen können. Bei der 3. Welle überlagert diese Hemmung die hormonale Spitzenwirkung völlig; der Grund dafür ist, daß die Wurzeln der 3. Welle nicht in das Wasser hineinwachsen wie die Wurzeln der übrigen Wellen, sondern über dem Flüssigkeitsspiegel entstehen, also stärker auf eine Wasserzufuhr von innen angewiesen sind. Eine Förderung durch die apikale Schnittführung (Verletzung!) ist an den Ergebnissen nicht beteiligt, vgl. S. 170.

Sind dagegen Seitenknospen vorhanden (Versuche 8—9), dann ist die fördernde Wirkung der Sproßspitze viel weniger markiert: In der 2. Welle ist sie nicht mehr signifikant (an den dekapitierten Pflanzen beginnen die Sproßknospen auszutreiben); in der 3. Welle ist sie von der oben angeführten Hemmung so stark überdeckt, daß diese signifikant wird; in der 4. Welle ist sie verschwunden: Hier sind an den dekapitierten Pflanzen die Knospen so weit ausgetrieben, daß sie ebenso stark wie die Sproßspitze auf die Wurzelbildung einwirken. *Der Einfluß von End- und Seitenknospen scheint prinzipiell derselbe zu sein.*

Wenn Endknospen vorhanden sind und deshalb die gleichfalls vorhandenen Seitenknospen nicht austreiben können (Versuch 10), wirken die letzteren nicht auf die Wurzelbildung. Da unter gleichen Versuchsbedingungen durch IES eine Förderung erzielt werden kann (Tabelle 10), zeigt dieses Ergebnis, daß ruhende Knospen keine nennenswerte Auxinquelle sind.

3. Der Einfluß der Primärwurzel

Wenn die Primärwurzel nicht entfernt wird, ist die Adventivwurzelbildung am Sproß stark gehemmt: Tabelle 8 (vgl. Einleitung). Unbeeinflußt bleibt wieder die 1. Welle. Die 3. Welle fehlt (wegen des Fehlens der basalen Schnittfläche) unter allen Umständen ganz. Wenn keine Knospen vorhanden sind (Versuche 1—3), ist die *Hemmung*

Tabelle 8. *Einfluß der Primärwurzel auf die Adventivwurzelbildung.* 7 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.			1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1—3	ohne alle Knospen	ohne Wurzeln	21	10	43	5	79
		mit Wurzeln	23	4	0	0,3	27
		P		<0,0002	<0,0002	<0,0002	
4—5	mit Seitenknospen ohne Endknospen	ohne Wurzeln	23	30	67	20	140
		mit Wurzeln	23	13	0	20	56
		P		<0,0002	<0,0002		
6—7	mit Seitenknospen mit Endknospen (ganzer Sproß)	ohne Wurzeln	35	52	47	50	184
		mit Wurzeln	38	32	0	38	108
		P		0,0027	<0,0002	0,07	

durch die Wurzel stärker als bei Vorhandensein von Seitenknospen (Versuche 4—5); im letzteren Falle bleibt die 4. Welle ganz ungehemmt. Da die 4. Welle zu einem Zeitpunkt abläuft, zu dem aus den austreibenden Seitenknospen schon kräftige Sprosse geworden sind, scheint es, als *lieferten diese stark wachsenden Sprosse einen Faktor, der der Wurzelhemmung entgegenwirkt.* Das legt die Vermutung nahe, daß Wurzelfaktor und Knospenfaktor (= Auxin?) Antagonisten seien, daß also die Wurzelhemmung auf Abgabe eines Hemmstoffes beruhe (s.S.176). Die (unter Wasser wachsenden) Endknospen liefern den Antagonisten zu dem Wurzelfaktor dann in unzureichender Menge, denn wenn sie an Stelle austreibender Knospen vorhanden sind (Versuche 6—7), wird die 4. Welle durch die Wurzel gehemmt, allerdings nicht signifikant. Es ist ohnehin zu vermuten und wird auf Seite 169 gezeigt, daß die Auxin- (oder allgemein die Wirkstoff-)abgabe der unter Wasser nur langsam wachsenden Endknospen anomal (herabgesetzt) ist (s. oben).

Am knospenlosen Stumpf werden (Versuche 1—3 der Tabelle 8) durch die Wurzel alle Wellen außer der 1. sehr stark gehemmt. Darauf beruht die Möglichkeit, die 1. (und einen sehr kleinen Teil der 2.) Welle von den übrigen abzutrennen, und zwar dadurch, daß bei Ansetzen des Versuches und Dekapitation die Wurzel zunächst belassen wird (Abb. 4). Dann läuft nur eine Welle ab. Wenn dann 9 Tage später (nachdem 3 Tage lang keine Wurzeln mehr entstanden waren) die Wurzel abgetrennt wird, setzen die übrigen 3 Wellen ein, und zwar in dem normalen zeitlichen Abstand zur Wurzelabtrennung: die 2. Welle z.B. hat ihr Maximum wie üblich um den 6. Tag herum, jetzt von der Wurzelabtrennung an gerechnet.

In den Versuchen der Tabelle 9 wird der Frage nachgegangen, ob das Vorhandensein der Wurzel an der Wirkung von Knospen etwas ändert. Der relativ starke Einfluß austreibender Seitenknospen findet mit gleicher Stärke statt, ob Wurzeln vorhanden sind oder nicht (Vergleich zwischen den Versuchen 1—2 oder 5—6 der Tabelle 7 mit dem Versuch 1 der Tabelle 9). Der ohnehin schwächere, fördernde Einfluß der unter Wasser wachsenden Endknospe dagegen scheint bei Vorhanden-

sein der Primärwurzel noch schwächer zu sein: Die Förderung der 2. Welle durch die Spitze (Versuche 8—9 der Tabelle 7) ist aufgehoben (Versuche 2—4 der Tabelle 9). Die 4. Welle wird bei Wurzelanwesenheit

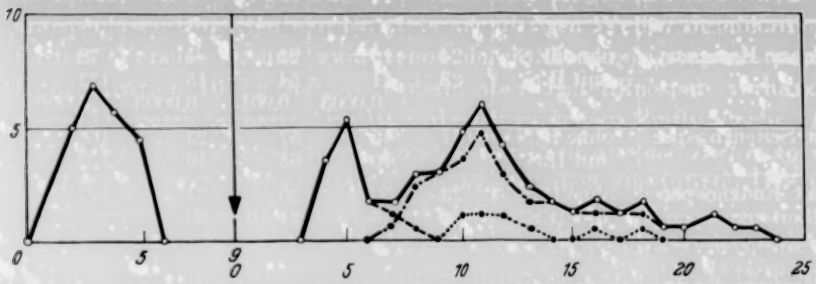

Abb. 4. Wie Abb. 1 A, aber die Wurzel nicht bei Versuchsbeginn entfernt, sondern 9 Tage später. Darstellungsweise und Bedeutung der Kurven wie Abb. 1 A. Pfeil: Zeitpunkt des Abschneidens der Wurzel

sogar gehemmt, d. h. der fördernde Spitzeneinfluß ist so schwach geworden, daß die Hemmung durch Wassermangel überwiegt. Aus diesem Ergebnis darauf zu schließen, daß der Wurzeleinfluß antagonistisch zu dem Spitzeneinfluß wirke, ist wegen der fehlenden Signifikanz sowohl

Tabelle 9. *Einfluß von End- und Seitenknospen bei Vorhandensein der Primärwurzel.* 4 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen. Versuch 1: Ohne Endknospen (dekapitiert), ± Seitenknospen. Versuch 2—4: Mit Seitenknospen, ± Endknospen

Versuch Nr.		1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	ohne Seitenknospen	25	2	0	0	27
	mit Seitenknospen	29	29	0	34	92
	P		<0,0002		<0,0002	
2—4	ohne Endknospen	32	33	0	43	108
	mit Endknospen	29	29	0	35	93
	P				0,015	0,02

der Förderung der 2. Welle durch die Endknospe bei fehlender Wurzel (Tabelle 7, Versuch 8—9) als auch der Hemmung der 4. Welle durch die Endknospe bei vorhandener Wurzel (Tabelle 9, Versuch 2—4) nicht zwingend.

4. Der Einfluß von Auxin (IES)

Diese Versuche wurden zunächst angestellt, um zu sehen, wieweit der Knospeneinfluß auf Auxinwirkung beruhen kann.

Der Einfluß von IES wurde in vielen Versuchen an knospenlosen Objekten mit und solchen ohne Primärwurzeln untersucht. Zur Anwendung kamen IES 10^{-7} bis 10^{-4} g/cm³. Die IES-Lösungen waren in

Tabelle 10. *Einfluß von IES* 10^{-7} g/cm³ *bei Vorhandensein oder Fehlen der Knospen.* Sproßstümpfe ohne Wurzeln. 3 Versuche. Zahlen: Wurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.			1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	ohne Knospen	ohne IES	24	19	25	4	72
		mit IES	23	41	54	15	133
		P		0,0003	0,001	0,0003	<0,0002
2	mit Seitenknospen	ohne IES	31	45	57	23	156
		mit IES	30	40	63	19	152
3	mit Endknospen (Seitenknospen täglich entfernt)	ohne IES	23	50	20	34	127
		mit IES	26	86	21	60	193
		P		0,0003		0,0015	

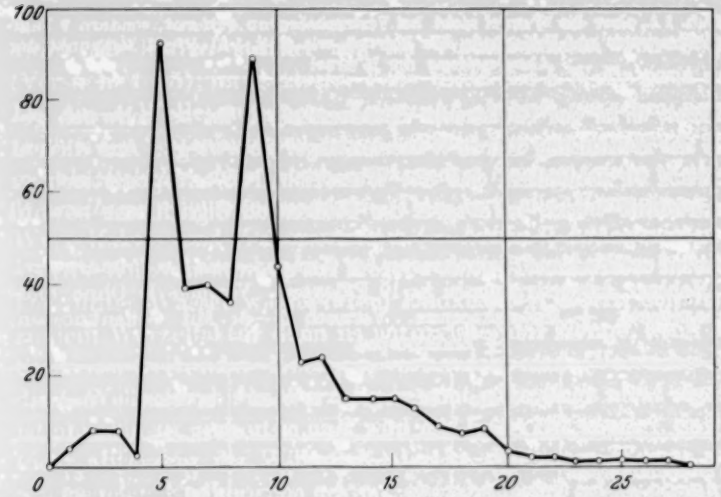

Abb. 5. Zahl der täglich neu entstehenden Adventivwurzeln bei Internodien mit Kotyledo und Wurzel, ohne Knospen, bei Zufuhr von IES 10^{-4}. Darstellung wie in Abb. 1 A

den Reagensgläsern und wurden täglich erneuert; die verwendeten Sproßstümpfe besaßen 2 Internodien, von denen nur eines in die Lösung eintauchte. Qualitativ hatten alle IES-Konzentrationen dieselbe Wirkung (der Einfluß war natürlich bei den hohen Konzentrationen am stärksten), dasselbe gilt für Objekte mit bzw. ohne Primärwurzel, so daß die Wiedergabe eines Versuches mit IES 10^{-7} genügt (Versuch 1 in Tabelle 10).

Bei sehr hohen IES-Konzentrationen (10^{-5}—10^{-4}) war die Zahl der entstehenden Adventivwurzeln so groß, daß eine Auftrennung in die einzelnen Wellen in der üblichen Weise nicht möglich war. Soweit es sich um Versuche an Objekten mit Primärwurzeln handelte, bei denen die 3. Welle fehlt, zeigte jedoch der zeitliche Ablauf der Bewurzelung am 2., 5. und am 9. Tag (Abb. 5), deutliche Maxima. Diese dürften der 1., 2. und 4. Welle entsprechen. Eine rohe Aufteilung in die drei Wellen wurde vorgenommen, indem die vom 1. bis 4. Tag entstehenden Wurzeln

der 1., die vom 5. bis 7. Tag entstehenden der 2., und die vom 8. Tag an entstehenden Wurzeln der 4. Welle zugeordnet wurden (vgl. Abb. 5).

Tabelle 10 zeigt, daß in jedem Falle wieder die erste Welle unbeeinflußt blieb; das gilt auch für die hohen IES-Konzentrationen. An knospenlosen Objekten wurden stets alle übrigen Wellen signifikant gefördert (Versuch 1), und zwar schon durch die niedrigste untersuchte Konzentration 10^{-7} g/cm³. — Sobald aber Seitenknospen vorhanden waren (Versuch 2), hatte IES 10^{-7} überhaupt keinen Einfluß mehr. *Die Knospenwirkung besteht also zumindest zum Teil aus der Lieferung von Auxin*, und zwar in einer Stärke, die der äußerlich zugeführter IES von der Konzentration 10^{-7} g/cm³ äquivalent ist.

Die Wirkung von Endknospen ist bei der verwendeten Methode viel schwächer als die der Seitenknospen, denn sie kann durch IES 10^{-7}-Zufuhr gesteigert werden (Versuch 3 in Tabelle 10). Die Auxinabgabe der Endknospen ist also zumindest geringer als die der Seitenknospen, was damit zusammenhängen mag, daß die ersteren sich bei der verwendeten Methode unter Wasser entwickeln.

Besteht aber der Knospeneinfluß lediglich aus Auxinlieferung? Um das zu entscheiden, wurde bei reichlicher Auxingabe (10^{-5} und 10^{-4}), die auf jeden Fall größer ist als die von den Knospen gelieferte Menge, der Einfluß der Knospen untersucht.

Alle Versuche, von denen in der Tabelle 11 nur zwei wiedergegeben sind, zeigen deutlich, daß zu Anfang des Versuches (1. und 2. Welle), wenn die Knospen noch nicht bzw. wenig ausgetrieben sind, bei starker Auxinzufuhr kein Knospeneffekt zu verzeichnen ist, daß aber etwa vom 8. Tage an, wenn sich die austreibenden Knospen zu kräftigen Sprossen entwickelt haben, die Wurzelbildung signifikant gefördert wird. *Die Knospen liefern also außer Auxin noch einen zweiten Bewurzelungsfaktor*, aber erst, wenn sie kräftig austreiben.

Tabelle 11. *Einfluß der Knospen bei gleichzeitiger starker Auxinzufuhr.* Sproßstümpfe mit oder ohne Wurzeln, ohne Endknospen. 2 Versuche. Zahlen: Wurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.			1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	mit Wurzeln IES 10^{-5} g/cm³	ohne Knospen	39	223	0	100	362
		mit Knospen	36	224	0	205	465
		P				<0,0002	
			1.–3. Tag	4.–7. Tag		ab 8. Tag	Gesamt
2	ohne Wurzeln IES 10^{-4} g/cm³	ohne Knospen	36	311		301	648
		mit Knospen	36	307		398	741
		P				<0,0002	

Im Zusammenhang mit einer bestimmten Fragestellung (S. 177) war es wichtig, ob die IES-Konzentration 10^{-4} bei der verwandten Methode bereits überoptimal ist. Sechs verschiedene Versuche zeigten, daß das nicht der Fall ist. Vier Versuche ergaben unter anderem, daß bei IES $^1/_3 \times 10^{-4}$ 210, 261, 338 bzw. 284 Adventivwurzeln je 10 Pflanzen entstanden; bei IES 1×10^{-4} entstanden 464, 372, 496 bzw. 389 Wurzeln; bei IES 3×10^{-4} waren es 700, 417, 561 bzw. 544. Der stärkste Effekt wurde also in jedem Falle durch die stärkste Konzentration, 3×10^{-4} g/cm³, erreicht.

5. Der Einfluß einer Verletzung

Es wurde oben (S. 165) die Förderung der 3. Welle durch Dekapitation des Sprosses damit erklärt, daß bei der angewandten Methode intakte Pflanzen unter Wassermangel leiden, der sich auf die Wurzeln der 3. Welle auswirken muß, weil sie sich oberhalb des Wasserspiegels bilden. Derselbe Befund könnte auf der Basis einer direkten Wirkung der Verletzung, etwa durch Vermittlung von Wundhormonen (vgl. Diskussion), erklärt werden. — Ebenso könnte erwogen werden, wieweit die bei der Abtrennung der Wurzel entstandene basale Wunde besonders an der Bildung der 0-Wurzeln beteiligt sei.

Zur experimentellen Prüfung der Wundwirkung muß man sich leider auf Längsschnitte beschränken, da Quereinschnitte zu einer Auxinstauung führen können. In 11 Versuchen wurde der Einfluß von tiefen Längsschnitten untersucht, die an der Basis oder in der Nähe der Spitze einer Pflanze angebracht wurden. Diese wurden mit einer Lanzettnadel beigebracht und in einigen Versuchen täglich erneuert. Die Methodik war wieder die übliche der Reagensgläser. Als Objekte wurden ganze Keimpflanzen, dekapitierte Pflanzen mit Seitenknospen, dekapitierte Pflanzen ohne Seitenknospen sowie wurzellose Pflanzen verwendet. Der Einfluß von basalen Verletzungen war in jedem Falle gleich Null. Bei apikaler Wunde wurde nur dann eine Förderung der Wurzelbildung erhalten, wenn es sich um ganze Sprosse (mit Endknospen) ohne Wurzeln, also solche mit einer 3. Bewurzelungswelle, handelte; und es war dann lediglich die 3. Welle gefördert (die von der Wunde am weitesten entfernt war). Da die apikalen Einschnitte im Unterschied zu den basalen in Wasser tauchten, dürfte auch hier nur eine Aufhebung des akuten Wassermangels vorliegen, den bei der angewandten Methode die nicht dekapitierten Pflanzen, und zwar gerade deren 3. Bewurzelungswellen (s. S. 165), erleiden. Eine Kerbe statt eines Längsschnitts, apikal angebracht, wirkte sich ebenso, nur noch stärker aus. Einen entsprechenden Versuch zeigt Tabelle 12.

Tabelle 12. *Einfluß einer Verletzung.* Ganze Sprosse, ohne Wurzel, unterhalb der Endknospe mit Längseinschnitten oder mit Kerben versehen. 1 Versuch. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

	1. Welle	2. Welle	3. Welle		4. Welle	Gesamt
Intakt	33	35	76	$P = 0{,}007$	36	176
Längs eingeschnitten	32	36	91	$P = 0{,}0027$	35	194
Gekerbt	32	35	104		31	204

Es kann also aus den vorliegenden Versuchen nicht auf einen humoralen fördernden Einfluß einer Verletzung auf die Adventivwurzelbildung geschlossen werden. Den Einwand, eine Querverletzung, die also die Leitbündel durchtrennen würde, könne erst zur Bildung eines „Wundhormons" führen, können diese Versuche nicht entkräften. Jedoch zeigen die Versuche der Tabelle 13, daß auch Quereinschnitte an der Wurzelbasis trotz damit verbundener Auxinstauung die Wurzelbildung unter Umständen nicht oder nur schwach fördern.

III. Nachweis und vorläufige Untersuchung des humoralen hemmenden Einflusses der Primärwurzel

Die Förderung der Adventivwurzelbildung durch Abschneiden der Wurzel ist oben nachgewiesen worden. Sie kann auf dreierlei Weise erklärt werden: 1. Durch Auxinstauung an der basalen Schnittfläche (verbreitetste Lehrmeinung), 2. durch Auftreten von Wundhormonen (durch die Ergebnisse des letzten Abschnitts zumindest nicht wahrscheinlich), 3. durch Wegfall eines direkt hemmenden Einflusses der Wurzel (Hemmstoffabgabe). Die Entscheidung wurde auf verschiedene Weise versucht:

1. Wirkung eines Wurzelstumpfes

Trennt man nicht die ganze Wurzel ab, sondern beläßt ein stumpfartiges, etwa 3 mm langes Stück der Wurzelbasis an der Pflanze, dann dürfte es bei einer Erklärung auf Grund von Auxinstauung oder auf Grund von Wundhormonen keine Hemmung durch diesen Wurzelstumpf geben; bei einer Erklärung auf Grund eines wurzeleigenen Hemmstoffes kann das Ergebnis wegen mangelnder Kenntnis des Bildungsortes solcher Wurzelhemmstoffe (nur in der Wurzelspitze oder auch in der Wurzelbasis?) nicht vorausgesagt werden. — Als Ergebnis derartiger Versuche konnte zwar eine Hemmung der 3. Welle gefunden werden, aber dieselbe Zahl an Wurzeln, um die diese Welle verringert war, trat nun als Seitenwurzeln an dem Wurzelstumpf auf. Der Wurzelstumpf hemmt also nicht. Die Versuche erlauben keine Entscheidung zwischen den angezeigten Möglichkeiten.

2. Auxinphysiologische Isolierung der Primärwurzel durch übergreifende Quereinschnitte

Wird die Wurzel nicht völlig abgeschnitten, sondern werden an ihrer Basis dicht untereinander von gegenüberliegenden Wurzelflanken aus zwei Quereinschnitte geführt, die tiefer gehen als bis zur Wurzelmitte, sich also übergreifen, dann ist eine derartige Abtrennung ein Hindernis für vertikal polar geleitete Stoffe wie das Auxin, jedoch keines für Stoffe, die auch transversal geleitet werden wie die aus der Wurzel stammenden Hemmstoffe. Außerdem ist ein derartiges Anschneiden eine ebenso starke Verletzung wie völliges Abtrennen der Wurzel. Wird die Wirkung des Abschneidens der Wurzel als Auxinstauung gedeutet oder als Wundwirkung, dann müßten die beiden Einschnitte ebenso stark die Adventivwurzelbildung beeinflussen wie das Abschneiden der Wurzel. Wie aus

Tabelle 13. *Wirkung der auxinphysiologischen Isolierung der Wurzel durch zwei übergreifende Quereinschnitte.* 2 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen. 1. Versuch: Intakte Pflanzen. 2. Versuch: Dekapitierte Pflanzen

Versuch Nr.		1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	a) intakte Pflanze	30	22	0	22	74
	b) 2 Quereinschnitte	26	17	17	14	74
	c) ohne Wurzel	29	35	53	54	171
	P zwischen a und b		0,025	<0,0002	0,017	
	P zwischen a und c		0,0003	<0,0002	<0,0002	<0,0002
2	a) Stumpf mit Wurzel	27	13	0	1,7	42
	b) 2 Quereinschnitte	28	9	18	1,3	56
	c) ohne Wurzel	27	18	34	3,3	82
	P zwischen a und b		0,0037	<0,0002	0,97	0,006
	P zwischen a und c		0,01	<0,0002	0,0003	<0,0002

Tabelle 13 hervorgeht, ist das nicht der Fall. Die zwei Quereinschnitte fördern zwar die Wurzelbildung insofern, als sie eine 3. Welle ermöglichen, aber dafür werden die 2. und 4. Welle gehemmt, so daß im Endeffekt die Gesamtbewurzelung unbeeinflußt bleibt oder im Vergleich zu der durch das Abschneiden der Wurzel bedingten Förderung nur leicht gefördert wird. Die Hemmung der 2. und 4. Welle ist zwar in keinem einzelnen Falle der Tabelle 13 signifikant, aber die gemeinsame Sicherung aller 4 Werte beider dargestellten Versuche über χ^2 ergibt $P < 0{,}0002$. Die Quereinschnitte bewirken im wesentlichen nur eine Verschiebung der Wurzelbildung zur Basis hin. *Die durch die Quereinschnitte abgetrennte Wurzel wirkt demnach noch hemmend, das läßt sich gut durch die Abgabe von Hemmstoffen durch die Wurzel erklären.*

3. Hemmung der Wurzelbildung durch Adventivwurzeln

In den bisherigen Versuchen wurden die entstandenen Adventivwurzeln täglich entfernt. Wenn sie stehengelassen werden, dann wird die weitere Adventivwurzelbildung stark gehemmt (Tabelle 14). Auf der Basis einer Auxinstauung läßt sich das schwer erklären, da am Stumpf seitlich ansitzende Adventivwurzeln kaum eine Auxinanreicherung in der Stumpfbasis verhindern können. Aber wenn man eine *Abgabe von Hemmstoffen aus den Adventivwurzeln* annimmt, wird das Ergebnis verständlich. Die jungen, stark wachsenden Adventivwurzeln hemmen sogar die weitere Adventivwurzelbildung stärker als die infolge des Aufenthalts in feuchter Luft nur langsam wachsende Primärwurzel: Bei Vorhandensein der letzteren (Versuch 6 in Tabelle 14) hemmen am Sproß stehende Adventivwurzeln noch zusätzlich.

Tabelle 14. *Wirkung der neugebildeten Adventivwurzeln auf die weitere Adventivwurzelbildung.* Dekapitierte Pflanzen. 6 Versuche. Zahlen: Wurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.			1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1—2	ohne Primärwurzel	Adventivwurzeln entfernt	26	19	35	10	90
	ohne Knospen	Adventivwurzeln belassen	23	4	23	1	51
		P		<0,0002	0,0025	<0,0002	
3—5	ohne Primärwurzel	Adventivwurzeln entfernt	19	19	55	15	108
	mit Knospen	Adventivwurzeln belassen	16	11	21	1	49
		P		0,0013	<0,0002	<0,0002	
6	mit Primärwurzel	Adventivwurzeln entfernt	25	26	0	51	102
	mit Knospen	Adventivwurzeln belassen	23	4	0	7	34
		P		<0,0002		<0,0002	

4. Auxin- und Hemmstoffextraktionen

Durch die Versuche über die Wurzelabtrennung durch Quereinschnitte kann als Ursache für die geförderte Wurzelbildung eine Auxinstauung unwahrscheinlich gemacht, nicht aber ausgeschlossen werden. Im Quereinschnittsversuch kann eine Überquerung des Schnitt-Hindernisses nicht völlig ausgeschlossen werden (wenn auch lange bekannt ist, daß 2 derartige Schnitte zur Stauung wurzelbildender Substanzen führen können, vgl. bereits PLETT 1921, JONES 1925, NĚMEC 1934); und bei den Versuchen des vorigen Abschnitts kann eine Ableitung des Auxins in die seitlich stehenden Adventivwurzeln nicht als völlig ausgeschlossen gelten. Um die ursächliche Beteiligung einer Auxinstauung bei den Quereinschnitt- und Adventivwurzelversuchen auszuschließen, wurden Auxinanalysen gemacht. Um eine ursächliche Beteiligung von Hemmstoffen zu beweisen, wurden Hemmstoffanalysen durchgeführt.

Ganzen *Pisum*-Pflanzen wurde die Wurzel abgeschnitten; oder sie wurde an ihrer Basis mit 2 übergreifenden Quereinschnitten versehen. 6 Tage später wurden von beiden Gruppen die 1. Internodien isoliert und in Äther bei 2—3° C 24 Std extrahiert. Dann wurden nach BOYSEN JENSEN (1941) die sauren von den neutralen Bestandteilen des Extraktes getrennt. Die sauren Bestandteile (Auxin) wurden in wäßriger Lösung direkt im geotropischen *Pisum*-Krümmungstest geprüft, und zwar in derselben Konzentration, wie sie (bezogen auf das Frischgewicht der extrahierten Internodien) in der Pflanze vorliegen. Die neutralen Bestandteile (die die wurzeleigenen Hemmstoffe enthalten, s. LIBBERT 1954, 1955a,b) wurden, da die wirksamen Hemmstoffe keine Aldehyde sind, mit Hydroxylamin (LIBBERT 1955a) von Aldehyden gereinigt und dann im *Pisum*-Krümmungstest daraufhin geprüft, wie stark sie eine IES-induzierte Krümmung reduzieren. Dabei wurden die neutralen Substanzen in einer Konzentration verwendet, die dreimal höher

Tabelle 15. *Auxin- und Hemmstoffgehalt der 1. Internodien von wurzellosen Pflanzen und solchen Pflanzen, deren Wurzel an der Basis mit 2 übergreifenden Quereinschnitten versehen waren.* Geotropischer *Pisum*-Krümmungstest, 2 Testungen. Zahlen: *t'*-Auxineinheiten

	t'	*P*
IES 10^{-8}	6,2	<0,0002
IES 10^{-8} + neutraler Extrakt aus Objekten ohne Wurzeln	3,75	
IES 10^{-8} + neutraler Extrakt aus Objekten mit angeschnittenen Wurzeln	1,5	<0,0002
Saurer Extrakt aus Objekten ohne Wurzeln	4,95	0,7
Saurer Extrakt aus Objekten mit angeschnittenen Wurzeln	4,75	

ist als die Konzentration in der Pflanze (wieder bezogen auf das Frischgewicht). Saure und neutrale Bestandteile wurden in getrennten Versuchen getestet, die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Des weiteren wurden dekapitierte, wurzellose, Knospen enthaltende Sproßstümpfe (entsprechend den Versuchen 3—5 in Tabelle 14) nach der üblichen Methode bewurzelt, bei der einen Hälfte der Objekte die entstehenden Adventivwurzeln täglich entfernt, bei der anderen Hälfte belassen. Nach 6 Tagen wurden wieder die 1. Internodien (nach Abtrennung aller Adventivwurzeln) extrahiert und des weiteren wie oben verfahren. Der Versuch wurde sowohl an grünen als auch an etiolierten Pflanzen durchgeführt; neutrale und saure Fraktion wurden wieder getrennt getestet (Tabelle 16).

Nach Tabelle 15 enthalten also die Pflanzen ohne Wurzeln, obwohl sie (Tabelle 13) weit mehr Adventivwurzeln bilden, nur ebensoviel Auxin wie die Pflanzen mit der durch Quereinschnitte isolierten Wurzel; d. h. die Quereinschnitte wirken in bezug auf eine Auxinanreicherung ebenso wie das Abschneiden der Wurzel. Nach Tabelle 16 enthalten die Objekte ohne Adventivwurzeln, obwohl sie (Tabelle 14) weit mehr neue Adventivwurzeln bilden, sogar weniger Auxin als die Objekte mit Adventivwurzeln (die gemeinsame statistische Sicherung der beiden *P*-Werte 0,005 und 0,14 über χ^2 ergibt $P = 0{,}0028$); das kann durch den

Tabelle 16. *Auxin- und Hemmstoffgehalt der 1. Internodien dekapitierter Sproßstümpfe ohne Primärwurzel, ± Adventivwurzeln.* 2 Versuche: Extraktion aus etiolierten und (Zahlen in Klammern) aus grünen Pflanzen. Geotropischer *Pisum*-Krümmungstest, 2 Testungen je Versuch. Zahlen: *t'*-Auxineinheiten

	t'	*P*
IES 10^{-8}	5,1 (4,9)	<0,0002 (0,022)
IES 10^{-8} + neutraler Extrakt aus Objekten ohne Adventivwurzeln	3,15 (3,9)	
IES 10^{-8} + neutraler Extrakt aus Objekten mit Adventivwurzeln	−0,5 (0,6)	<0,0002 (<0,0002)
Saurer Extrakt aus Objekten ohne Adventivwurzeln	4,1 (4,6)	0,005 (0,14)
Saurer Extrakt aus Objekten mit Adventivwurzeln	5,45 (5,3)	

laufenden Auxinverbrauch bei der stärkeren Adventivwurzelneubildung erklärt werden. — *Eine Auxinanreicherung als Ursache für verstärkte Wurzelbildung scheidet bei den vorliegenden Versuchen aus.*

Nach Tabelle 15 bzw. 16 enthalten aber die Objekte mit angeschnittenen Primärwurzeln bzw. mit Adventivwurzeln weit mehr (neutrale) Hemmstoffe als die Objekte ohne Wurzeln. *Gehalt an Hemmstoffen und Stärke der Adventivwurzelbildung sind negativ korreliert*, hoher Hemmstoffgehalt ist mit geringer Bewurzelung verbunden. Das Ergebnis macht die Bedeutung der wurzeleigenen Hemmstoffe für die Adventivwurzelbildung sehr wahrscheinlich.

Tabelle 17. *Wirkung der ätherischen Extrakte aus Wurzeln etiolierter Pflanzen auf die Adventivwurzelbildung dekapitierter Sproßstümpfe ohne Wurzeln, aber mit Knospen.* 2 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.		1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	Kontrolle	27	59	48	56	190
	Gesamtextrakt	31	27	47	18	123
	P		0,0006		<0,0002	
2	Kontrolle	31	19	48	21	119
	Extrakt, saure Fraktion	34	14	45	24	117
	Extrakt, neutrale Fraktion	33	5	45	14	97
	P		0,0025			

Es genügt aber nicht, die Wirkung dieser Hemmstoffe im Auxintest zu untersuchen. Es muß auch die Wirkung der Extrakte auf die Wurzelbildung selbst untersucht werden. Das geschah auf breiter Basis mit einer anderen Methode (LIBBERT 1956b). Da für die vorliegenden Reagensglasversuche eine zu große Hemmstoffmenge benötigt wurde, wurden nur 2 Hemmstoffversuche in Reagensgläsern durchgeführt (Tabelle 17). Hier wurden die Wurzeln extrahiert, in denen der Hemmstoff in größter Menge zu erwarten ist. Der erste Versuch zeigt eine Hemmung der 2. und 4. Welle durch den Gesamt-Ätherextrakt. Im zweiten Versuch, bei dem fraktioniert wurde und saure und neutrale Fraktion getrennt untersucht wurden, wird die *Hemmung nur durch die neutrale Fraktion* erreicht. Aber im zweiten Versuch ist der Effekt gering und nur in der 2. Welle signifikant.

5. Ist der Wurzel-Hemmstoff ein Auxinantagonist?

Die Versuche dieses Abschnitts gehen von der Erkenntnis aus, daß die Wurzel mittels eines Hemmstoffes die Adventivwurzelbildung beeinflußt. Sie liefern außerdem weitere Beweise für diese Erkenntnis. Die eigentliche Fragestellung ist aber, ob der wirksame Hemmstoff in

Tabelle 18. *Herabgesetzte Wirkung der Primärwurzel bei täglicher Auxinzufuhr.* Dekapitierte Sproßstümpfe ohne Knospen, ± Primärwurzel. 2 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.	IES-Konzentration		1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
1	10^{-7}	ohne Wurzel	26	43	44	25	138
		mit Wurzel	30	36	0	25	91
		P		0,42	<0,0002		
2	10^{-6}	ohne Wurzel	35	68	65	47	215
		mit Wurzel	33	60	0	43	136
		P		0,43	<0,0002	0,66	

ein anderes Glied des Wurzelbildungsvorganges eingreift als Auxin, oder ob es sich um einen Auxinantagonisten handelt. Im letzteren Falle müßte die Hemmung der Wurzelbildung durch (Primär- oder Adventiv-) Wurzeln wenigstens zum Teil dadurch aufgehoben werden können, daß Auxin zugeführt wird. Auf S. 166 wurde bereits eine derartige Vermutung ausgesprochen auf Grund des Befundes, daß an knospenlosen, also auxinarmen Pflanzen die Hemmung der Wurzelbildung durch die Primärwurzel geringer war als an Pflanzen mit Knospen, was sich besonders an der 4. Welle zeigte (Tabelle 8, Versuch 4—5). Aus diesem Grunde wurden dieselben Versuche, aber ohne Knospen und statt dessen unter täglicher Auxinzufuhr (10^{-7} bzw. 10^{-6} g/cm³) durchgeführt (Tabelle 18). Ergebnis: Auch bei Auxinzufuhr wird (wie bei Knospengegenwart) die 4. Welle durch das Vorhandensein der Primärwurzel nicht gehemmt; selbst die Hemmung der 2. Welle ist nur noch sehr gering und nicht signifikant. Auxin wirkt also in gewissem Grade antagonistisch zu dem Wurzelhemmstoff. — Die Gesamt-Wurzelbildung bleibt aber auch bei Auxinzufuhr (10^{-7}—10^{-6}) durch die Primärwurzel gehemmt. Die 2. Welle wird auch bei Auxinzufuhr durch die Wurzel ganz unterdrückt.

Tabelle 19. *Aufhebung der hemmenden Wirkung der Primärwurzel bei starker Auxinzufuhr.* Dekapitierte Sproßstümpfe ohne Knospen, ± Primärwurzel. 6 Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.	IES-Gabe		Ohne Wurzel	Mit Wurzel	*P*
	Konzentration	Dauer (h)			
1	10^{-5}	24	196	72	<0,0002
2	$^1/_3 \times 10^{-4}$	24	327	284	0,76
3—5	10^{-4}	24	413	481	0,009
6	10^{-4}	48	408	699	0,0005

Erhöht man die experimentell zugeführte IES-Konzentration noch mehr, *dann kann jeder hemmende Einfluß der Wurzel aufgehoben werden.* Entsprechende Versuche zeigt Tabelle 19, in der wegen der starken Bewurzelung und der dadurch schwierigen Trennung der einzelnen Wellen voneinander nur die Gesamtbewurzelungszahlen gegeben werden. Die

Tabelle zeigt, daß bei sehr hohen IES-Konzentrationen die Wirkung der Wurzel sogar in eine Förderung übergeht! Da auf S. 170 gezeigt wurde, daß derartige IES-Konzentrationen bei Anwendung der benutzten Methode nicht überoptimal für die Wurzelbildung sind, die Förderung also nicht darauf beruhen kann, daß durch einen Antagonisten aus der Wurzel eine durch zu hohe Auxinkonzentration verursachte Hemmung aufgehoben wird, läßt sich dieses Ergebnis nur mit der *Annahme eines zweiten Wurzeleinflusses auf die Adventivwurzelbildung* erklären, der den *Charakter einer Förderung* trägt. Diese Aufhebung der Wurzelhemmung durch starke Auxinzufuhr ist ein weiterer Beleg dafür, daß der hemmende Wurzeleinfluß auf der Abgabe eines Hemmstoffes, und zwar eines Auxinantagonisten beruht.

Tabelle 20. *Herabgesetzte Wirkung der Adventivwurzeln bei starker Auxinzufuhr.* Dekapitierte Sproßstümpfe mit Knospen, ohne Primärwurzeln. IES-Gabe: täglich 10^{-5} g/cm³. 2 gleiche Versuche. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

Versuch Nr.		2. Tag	4. Tag	6. Tag	11. Tag
1	Adventivwurzeln täglich entfernt . .	5	19	270	500
	Adventivwurzeln belassen	5	26	357	467
	P.			0,009	0,21
2	Adventivwurzeln täglich entfernt . .	4	26	298	454
	Adventivwurzeln belassen	5	34	245	362
	P.		0,10		0,015

Gemeinsame Signifikanz der *P*-Werte 0,009 und 0,10 über χ^2: $P = 0{,}0035$.
Gemeinsame Signifikanz der *P*-Werte 0,21 und 0,015 über χ^2: $P = 0{,}01$.

Nun wächst bei der verwandten Methode die (in feuchter Luft befindliche) Primärwurzel schlecht, ist also physiologisch nicht so aktiv, wie es Wurzeln normalerweise sind. Viel aktiver dürften die neugebildeten Adventivwurzeln sein, die kräftig wachsen. Deshalb wurde versucht, auch die von diesen Adventivwurzeln ausgehende Hemmung der Wurzelbildung dadurch aufzuheben, daß IES zugeführt wird. Diese Versuche, die den Versuchen 3—5 der Tabelle 14 entsprechen, waren nicht sehr eindeutig (Tabelle 20): Bei täglicher Zufuhr von IES 10^{-5} gelingt es zwar, die Hemmung durch die Adventivwurzeln aufzuheben und in eine leichte Förderung umzuwandeln, aber nur zu Beginn des Versuchs. Gegen Ende des Versuchs setzt sich die übliche Hemmung durch die stehengelassenen Adventivwurzeln wieder durch, wenn auch nicht stark und nicht signifikant. Aber es wird auch hier der hemmende Einfluß der Wurzeln durch hohe IES-Konzentrationen merklich abgeschwächt.

Daß diese Abschwächung spezifisch auf die hemmende Wurzelwirkung gerichtet ist, und daß nicht die starke Förderung der Wurzelbildung durch IES den Unterschied zwischen wurzellosen Pflanzen und solchen mit Adventivwurzeln nur über-

deckt, soll Tabelle 21 zeigen. Es handelt sich um dasselbe Experiment wie die in Tabelle 20 dargestellten, nur daß nicht täglich IES 10^{-5}, sondern einmal 16 Std IES 10^{-4} geboten wurde. Der Effekt dieser Behandlung ist bei täglicher Entfernung der neugebildeten Adventivwurzeln etwa ebenso stark wie der einer täglichen 10^{-5} IES-Gabe, aber die stehengelassenen Adventivwurzeln hemmen hier, da die IES nur vorübergehend einwirkte, weitaus stärker.

Tabelle 21. *Wie Tabelle 20, aber nicht tägliche Zufuhr von IES 10^{-5}, sondern einmal 16stündige Zufuhr von IES 10^{-4}.* 1 Versuch

	11. Tag	*P*
Adventivwurzeln täglich entfernt	418	$<0{,}0002$
Adventivwurzeln belassen	160	

6. Versuch, den wirksamen Hemmstoff durch ein wäßriges Milieu von einer Pflanze auf die andere zu übertragen

Diese Versuche schlugen fehl. Es wurde als Donator jeweils eine Pflanze (dekapitierter Sproßstumpf, mit Knospen, ohne Primärwurzel) in ein Reagensglas gesetzt. Die Hälfte der Pflanzen durfte sich bewurzeln, bei der anderen Hälfte wurden die Wurzeln täglich entfernt. Eine dritte Gruppe von Reagensgläsern blieb vorläufig leer. 7 Tage später, wenn die Adventivwurzeln gut entwickelt waren, wurde als Receptor eine zweite Pflanze (dekapitierter Sproßstumpf, mit oder ohne Knospen, ohne Primärwurzel) in dasselbe Reagensglas mit hineingesetzt. Niemals wurde, weder durch die wurzellosen noch durch die bewurzelten Donatorpflanzen, ein (fördernder oder hemmender) Effekt auf die Bewurzelung der Receptorpflanzen erzielt.

7. Versuche mit Cumarin

In einigen früheren Arbeiten (LIBBERT 1954, 1955a, c) verhielten sich bestimmte, aus der Wurzel stammende Hemmstoffe in mancher Hinsicht ähnlich wie Cumarin in sehr geringer Konzentration. Darum wurden Bewurzelungsversuche mit Cumarin durchgeführt. Allein geboten, wirkte Cumarin (10^{-8}—10^{-5} g/cm³) überhaupt nicht auf die Wurzelbildung, nur die Konzentration 10^{-4} tötete vor Einsetzen der 2. Welle die Objekte ab. Diese negativen Ergebnisse gelten für dekapitierte Sproßstümpfe ohne Wurzeln, mit oder auch ohne Knospen. Wurden aber an knospenlosen Objekten gleichzeitig IES (10^{-7}) und Cumarin geboten, dann konnte die durch IES erzielte Bewurzelungsförderung durch Cumarin zum geringen Teil aufgehoben werden (Tabelle 22).

Die hemmende Cumarin-Wirkung erstreckt sich aber nur auf die 2. und 4. Welle. Die 3. Welle wird sogar leicht (nicht signifikant) gefördert: Die Wurzeln dieser Welle (0-Wurzeln) entstehen über dem Flüssigkeitsspiegel und sind deshalb der Cumarinwirkung nicht direkt ausgesetzt. Die leichte Förderung der 3. Welle könnte ursächlich mit der Hemmung der 2. und 4. Welle zusammenhängen: Konkurrenz der entstehenden Wurzeln untereinander vermittels Hemmstoffen.

Tabelle 22. *Einfluß von Cumarin auf die Adventivwurzelbildung bei gleichzeitiger Zufuhr von IES.* Dekapitierte Sproßstümpfe ohne Knospen, ohne Wurzeln. Tägliche Cumarin- und Auxinzufuhr. 1 Versuch. Zahlen: Adventivwurzeln je 10 Pflanzen

	1. Welle	2. Welle		3. Welle		4. Welle		Gesamt
Kontrolle	27	24	$P = 0{,}0009$	25		3	$P = 0{,}001$	79
IES 10^{-7}	25	44		54		16		139
IES 10^{-7} + Cumarin 10^{-7} . .	26	23	$P = 0{,}0012$	68	$P = 0{,}05$	4	$P = 0{,}0025$	121
IES 10^{-7} + Cumarin 10^{-6} . .	27	27		70		2		126

Die Tatsache, daß Cumarin an knospenlosen Objekten bei IES 10^{-7}-Gabe hemmend wirkt, dagegen nicht an Objekten mit Knospen (die ebenfalls selbst Auxin liefern, und zwar in einer der experimentellen Zufuhr von IES 10^{-7} äquivalenten Konzentration), ließe sich mit dem Vorliegen des zweiten Knospenfaktors (s. S. 169) in Zusammenhang bringen. Es sind aber auch andere Erklärungen möglich, so daß darüber keine Spekulationen angestellt werden sollen.

IV. Ergänzende Versuche mit der Erbsensorte „*Saxa*"

Es wurde auf S. 164 erwähnt, daß der Ablauf der Adventivwurzelbildung bei 4 von 5 untersuchten Erbsensorten gleichartig verliefe. Die

Tabelle 23. *Abweichender Ablauf der Adventivwurzelbildung bei der Erbsensorte „Saxa"* (die entsprechenden Versuche mit der Sorte „*Senator*" s. Tabelle 8, Versuch 1—3). Dekapitierte Sproßstümpfe ohne Knospen. 2 Versuche. Zahlen: Wurzeln je 10 Pflanzen

	1. Welle	2. Welle	3. Welle	4. Welle	Gesamt
Ohne Wurzel	0	23	23	2	48
Mit Wurzel .	0	2	0	2	4

Sorte „*Saxa*" verhält sich anders: Tabelle 23. Es gibt bei dieser Sorte keine 1. Welle. Die Bewurzelung setzt erst am 5. Tag ein und erreicht am 7. Tag ihr erstes Maximum, koinzidiert also mit der 2. Welle bei den anderen 4 Erbsensorten. Das Fehlen einer Welle geht auch daraus hervor, daß bei „*Saxa*", ganz im Gegensatz zu den in Abb. 2 dargestellten Verhältnissen, an der Einzelpflanze die Entfernung der neuentstehenden Adventivwurzeln von der Basis bis zum Einsetzen der 3. Welle (0-Wurzeln) ständig steigt. Während bei „*Senator*" durch das Vorhandensein der Wurzel (wenn Knospen fehlen) alle Wellen bis auf die erste fast unterbunden werden (Tabelle 8, Versuch 1—3 und Abb. 4), geht der Einfluß bei „*Saxa*" noch weiter: Es findet bei Vorhandensein der Wurzel so gut wie gar keine Bewurzelung mehr statt (Tabelle 23).

Im Zusammenhang mit dem Fehlen der 1. Welle bei „*Saxa*" sind die folgenden beiden Beobachtungen wichtig:

1. Werden isolierte 1. Internodien der Sorte „*Saxa*" nach der Petri-Schalenmethode zur Bewurzelung ausgelegt, dann erfolgt ohne IES-Zufuhr keine Wurzelbildung, dgl. auch nicht bei niedrigen IES-Konzentrationen, sondern erst bei IES 10^{-5} und optimal bei 10^{-4}. Bei den übrigen Erbsensorten (LIBBERT 1956a, Tabelle 1) bewurzelt sich das 1. Internodium ohne IES; die Abhängigkeit von der IES-Konzentration weist 2 Optima auf: Bei 10^{-7} und bei 10^{-4}. Die Bewurzelung ohne IES und das erste Optimum bei 10^{-7} stellen bei den anderen Sorten die Wurzelbildung aus bereits vorhandenen Wurzelanlagen dar. Diese fehlt also bei der Sorte „*Saxa*".

2. Werden Erbsen so tief in feuchten Sand gepflanzt, daß beim Keimen das 1. Internodium im Sand bleibt, dann entstehen nach einiger Zeit (an der völlig intakten Pflanze) am 1. Internodium einige (1—5) Adventivwurzeln. Das gilt für alle untersuchten Erbsensorten („*Senator*", „*Wunder von Kelvedon*", „*Überreich*" und „*Allerfrüheste Mai*") bis auf die Sorte „*Saxa*", bei der auf diese Weise keine Bewurzelung zu erzielen ist.

Es ist auf Grund dieser Versuche anzunehmen, daß die Adventivwurzeln der 1. Welle aus vorgebildeten Wurzelanlagen entstehen (vgl. Diskussion).

Diskussion

1. Der Einfluß der Knospen

End- und Seitenknospen beeinflussen die Wurzelbildung qualitativ gleichartig (s. S. 165). Anhand der vorliegenden Versuche können (bedingt durch die Methodik) für Seitenknospen mehr experimentelle Aussagen gemacht werden als für Endknospen.

Die *Förderung der Adventivwurzelbildung durch Knospen*, und zwar sowohl der Wurzelbildung de novo (Abschnitt II) als auch der Wurzelbildung aus Wurzelanlagen (Abschnitt I) geht aus vielen Versuchen dieser Arbeit hervor.

Diese Förderung ist für Seitenknospen (PLETT 1921, VAN DER LEK 1924, 1933, 1934, WENT 1929, BOUILLENNE und WENT 1933, MOLISCH 1935) und für Endknospen (DOSTÁL 1926, KEEBLE, NELSON und SNOW 1930, BÜRCKNER 1934, SKOOG 1944) lange bekannt, hormonale Zusammenhänge wurden erstmals von VAN DER LEK (1924) angenommen. Auch ruhende, sogar eingegipste Knospen können fördern (VAN DER LEK 1924). Bei manchen Pflanzen (z. B. BOUILLENNE und BELTCHEVA 1932, BOUILLENNE und WENT 1933) und in manchen Jahreszeiten (VAN DER LEK 1933) fördern Knospen nicht. Unter Umständen können Knospen sogar die Wurzelbildung hemmen (VAN DER LEK 1924, 1934); darauf gehe ich in einer anderen Arbeit ein (1956b).

Zum Teil besteht der Knospeneinfluß aus einer Lieferung von Auxin, und zwar unter den Bedingungen der vorliegenden Versuche in einer Menge, die der äußerlichen Zufuhr von IES 10^{-7} g/cm³ etwa äquivalent ist; denn während an knospenlosen Objekten IES 10^{-7} die Adventivwurzelbildung deutlich fördert, unterbleibt diese Förderung an Objekten

mit Knospen (Tabelle 10, Tabelle 1). — Daß die Knospen mittels Auxinlieferung die Wurzelbildung beeinflussen, geht z. B. aus Arbeiten von WENT (1938), GEIGER-HUBER (1940), OVERBEEK und GREGORY (1945) hervor. Auch daß der Knospeneinfluß unter bestimmten Versuchsbedingungen ausgesprochen polar ist (S. 165), läßt sich mit einer Förderung über eine Auxinlieferung erklären.

Daneben gibt es aber noch einen Einfluß der Knospen auf die Adventivwurzelbildung von anderer als Auxinnatur. Auch wenn eine etwa 100 bis 1000mal höhere Auxinkonzentration geboten wird, als sie von den Knospen geliefert werden kann, macht sich eine deutliche Förderung durch die Knospen bemerkbar (Tabelle 11). Allerdings tritt sie erst auf, wenn die Knospen zu kräftigen Sprossen austreiben (4. Welle). An isolierten 1. Internodien, die nicht vom Kotyledo her ernährt werden, und an denen die Knospen nur schwach treiben, läßt sich die Überlegenheit längerer Internodien über kürzere (hinsichtlich der Wurzelbildung) weder durch IES allein (Tabelle 4) noch durch Knospen allein (Tabelle 5) aufheben, wohl aber durch beide, Knospen und IES, zusammen (Tabelle 5). Das ist insofern von Bedeutung, als hier ein Zusammenhang bestehen kann mit einem Wurzelbildungsfaktor, der (LIBBERT 1956a) in der Sproßachse von *Pisum*-Internodien vorkommt und im einzelnen Internodium bevorzugt apikal angereichert ist (Lieferung aus Knospen ?). Dieser Faktor, der sog. Faktor X, kann für die Überlegenheit der längeren Internodien über die kürzeren mitverantwortlich sein; und da diese Überlegenheit nur bei Anwesenheit von Knospen (plus Auxin) verschwindet, wird dieser Faktor tatsächlich aus den Knospen stammen.

Diese Annahme erklärt auch eine kleine Diskrepanz: Nur bei gleichzeitiger Darbietung von IES können die Knospen die Überlegenheit der längeren Internodien aufheben. Da aber die Knospen selbst eine Auxinmenge liefern, die für das Auswachsen der Wurzelanlagen optimal ist, erscheint dieses Ergebnis paradox. Die bereits (1956a) diskutierten Eigenschaften des Faktors X geben die Erklärung: Es wurde angenommen, daß dieser Faktor eine Verbindung mit IES eingeht, und daß zwischen dem Reaktionsprodukt einerseits und den Einzelkomponenten andererseits ein Gleichgewicht bestünde. Dann muß bei stärkerer Erhöhung der Konzentration der einen Komponente (IES) eine verstärkte Bildung des Reaktionsproduktes einsetzen, und es kann aus diesem Grunde ein verstärkter Abfluß dieses Faktors aus den Bildungsorganen (Knospe) erfolgen. Das erklärt den hohen (IES 10^{-6}) Auxinbedarf, um, bei Anwesenheit der Knospe, den Einfluß der Internodienlänge auf die Wurzelbildung aufzuheben. — Diese Erklärung setzt voraus, daß der Faktor X nicht nur in die Wurzelbildung de novo eingreift, sondern auch in die Wurzelbildung aus Wurzelanlagen, um die es sich bei den geschilderten Versuchen am 1. Internodium handelt. Das wurde bei der bisherigen Diskussion des Faktors X (1956a) noch offen gelassen.

Eine ganze Reihe von Literaturangaben zeigt, daß es andere die Wurzelbildung beeinflussende Knospenfaktoren gibt als Auxin: WENT (1934) und THIMANN und WENT (1934) erhielten an *Pisum* auch bei Auxindarbietung ohne Knospen

keine Wurzelbildung; gleiches fand RAPPAPORT (1939) an *Cordyline*; WENT und THIMANN (1937) vermuteten eine doppelte Knospenwirkung auf die Wurzelbildung, eine davon sollte in Auxinlieferung bestehen; nach OVERBEEK und GREGORY (1945) fördern auch bei Auxingegenwart die Knospen leicht die Wurzelbildung an *Hibiscus* (die Hauptknospenwirkung besteht nach diesen Autoren aber in einer Auxinlieferung); SKOOG (1944) erhielt an Gewebekulturen erst dann Wurzelbildung, wenn bereits Sprosse vorhanden waren, Auxin konnte den Sproßeinfluß nicht ersetzen; auch GAUTHERET (1944) und CAMUS (1949) sowie auch WAY (1954) nahmen einen wurzelbildend wirkenden Knospenfaktor an, der nicht mit Auxin identisch ist. — Daß eine Wurzelbildung auch ohne Anwesenheit von Knospen und Blättern erfolgen kann (DORFMÜLLER 1938, WENT 1938, HITCHCOCK und ZIMMERMAN 1938, GUTHRIE 1938, 1939, LINDNER 1940, DE ROPP 1947, LIBBERT 1956a) ist kein Einwand gegen die Beteiligung solcher Faktoren an der Wurzelbildung: Die betreffenden Knospenfaktoren können auch im Stengelgewebe mehr oder weniger reichlich vorhanden sein, wie etwa der Faktor X in den Erbseninternodien.

2. Der Einfluß der Wurzel

Es ist lange bekannt, daß ein *Abschneiden der Primärwurzel die Adventivwurzelbildung stark fördert* (s. Tabelle 8) oder gar ermöglicht [WENT (in BOUILLENNE und WENT) 1933: „La présence d'une racine combat la formation des nouvelles!"].

Die Verletzung (Wundhormon) ist aber nicht die Ursache für diese Erscheinung: 1. hatten (S. 170) anhaltende Verletzungen in Form von Längsschnitten keinen Einfluß auf die Wurzelbildung, und 2. wurde auch durch zwei tiefe Quereinschnitte in die Wurzelbasis (Tabelle 13) kein oder nur ein schwacher Effekt erreicht. 3. gibt es in der einschlägigen Literatur keinen unanfechtbaren Beweis dafür, daß im Zuge einer Verletzung auftretende Wundhormone einen Einfluß auf die Adventivwurzelbildung nehmen (vgl. die Literaturbesprechung LIBBERT 1956c).

Ebensowenig kann eine Auxinstauung der einzige wirksame Faktor sein. 1. fördert das beiderseitige tiefe Einschneiden der Wurzelbasis, das zu ebenso starker Auxinstauung führt wie völlige Entfernung der Wurzel (Tabelle 15), die Wurzelbildung gar nicht oder im Vergleich zu der durch völlige Wurzelabtrennung erzielten Förderung nur unwesentlich (Tabelle 13); 2. hemmen die bereits entstandenen, stehengelassenen Adventivwurzeln die weitere Adventivwurzelbildung stark, ohne die Auxinstauung herabzusetzen (eher das Gegenteil, Tabelle 16); und 3. wird bei zusätzlicher Auxinzufuhr die Förderung der Wurzelbildung durch ein Abschneiden der Hauptwurzel (oder: Die Hemmung durch die vorhandene Wurzel) aufgehoben (Tabelle 18, 19, 20). Das Gegenteil müßte erwartet werden, wenn nur die Auxinstauung wirksam sein sollte.

Dagegen kann gezeigt werden, daß die Wurzelwirkung auf eine dritte, noch nicht erwogene Möglichkeit zurückgeht: *Die intakte Wurzel gibt an den Sproß Hemmstoffe ab, die die Adventivwurzelbildung verhindern*

oder zumindest hemmen: 1. enthält ein Steckling, an dem sich noch eine durch zwei tiefe Quereinschnitte abgetrennte Wurzel befindet, wohl ebensoviel Auxin, aber mehr Hemmstoffe als ein wurzelloser Steckling (Tabelle 15), und er bewurzelt sich schlechter (Tabelle 13); 2. enthalten Objekte mit Adventivwurzeln im Stengel etwas mehr Auxin, aber viel mehr Hemmstoffe als solche ohne Adventivwurzeln (Tabelle 16), und sie bewurzeln sich schlechter (Tabelle 14); und 3. hemmen aus der Wurzel gewonnene Extrakte die Adventivwurzelbildung (Tabelle 17); 4. wird die Wurzelbildung an isolierten Internodien selbst durch das kurze Hypokotyl gehemmt (Tabelle 6), das also ähnlich wie die Wurzel zu wirken scheint, wobei die gewählte Versuchsanordnung den Einfluß der Verletzung und den einer Auxinstauung ausschließt.

Einige Anhaltspunkte liegen dafür vor, daß der wirksame, von der Wurzel abgegebene Hemmstoff ein Auxinantagonist ist: 1. hemmen die Wurzeln bei Anwesenheit von viel Auxin weit schwächer (Tabelle 18—20); 2. ist der Wurzeleinfluß auch bei Anwesenheit von Knospen (die Auxin liefern!) geringer als an knospenlosen Objekten (Tabelle 8); 3. scheint umgekehrt das Vorhandensein von Wurzeln den fördernden Endknospeneinfluß zu reduzieren (S. 167, Tabelle 9), ein Ergebnis, das allerdings nicht signifikant ist.

Die eben erwähnte Tatsache, daß Auxinzufuhr die Hemmung der Adventivwurzelbildung durch die Primärwurzel aufhebt, gilt für die an allen Teilen des regenerierenden Internodiums entstehenden Adventivwurzeln mit Ausnahme derer, die nach Abtrennung der Primärwurzel direkt an der basalen Schnittfläche entstehen (Tabelle 18). Das sind die Adventivwurzeln der „3. Bewurzelungswelle". Das ist verständlich; denn es soll nicht abgestritten werden, daß eine Auxinanreicherung als Folge der Abtrennung der Hauptwurzel und als Ursache verstärkter Wurzelbildung auftritt; nur soll gezeigt werden, daß daneben auch der Fortfall von Hemmstoffen als Bindeglied zwischen Wurzelabtrennung und verstärkter Wurzelbildung erscheint. Die an der basalen Schnittfläche entstehenden Adventivwurzeln beweisen bereits durch ihre Lokalisation, daß sie auf eine verstärkte Auxinanreicherung an einem durch die Schnittführung willkürlich festgelegten Ort zurückzuführen sind.

Bezüglich der Ansicht, daß der Wurzelhemmstoff ein Auxinantagonist sei, muß allerdings gesagt werden, daß, obwohl die Versuche dieser Arbeit diese Ansicht stützen, von einem definitiven Beweis dafür noch nicht die Rede sein kann. Über entsprechende Untersuchungen hoffe ich später berichten zu können.

Obwohl die Abgabe von Hemmstoffen, die spezifisch die Adventivwurzelbildung beeinflussen, durch die Wurzel bisher noch nicht erwogen wurde, finden sich bei aufmerksamer Durchsicht der Literatur sehr viele Hinweise darauf. Sämtliche Belege dafür werden im Zusammenhang mit der genaueren Untersuchung der wirksamen Hemmstoffe (Libbert 1956b) zusammengefaßt, so daß hier die Literatur über den Einfluß der Wurzel auf die Adventivwurzelbildung nicht besprochen zu werden braucht.

Die auffällige Tatsache, daß dann, wenn der hemmende Einfluß der Wurzel auf die Adventivwurzelbildung durch starke, aber keinesfalls

überoptimale IES-Zufuhr aufgehoben wird, eine *Förderung durch die Wurzel* übrigbleibt (Tabelle 19, 20), die normalerweise durch die stärkere Hemmung überdeckt wird, wurde schon auf S. 177 erwähnt. Es kann sich um eine Lieferung von Wirkstoffen, etwa Bestandteilen des Rhizokalin-Komplexes (LIBBERT 1956a), handeln. Auch dafür gibt es Parallelen: WENT (1938) konnte zeigen, daß bei apikaler Applikation konzentrierter Auxinpaste auf dekapitierte *Pisum*-Stecklinge unter *der* Bedingung etwas mehr Adventivwurzeln entstehen, daß die Primärwurzel nicht entfernt wurde. Auch STEPHENSON (1943) fand einen fördernden Wurzeleinfluß auf die Adventivwurzelbildung, der durch ein Nährmedium besser übertragen wurde als die gleichzeitig nachgewiesene hemmende Wirkung.

3. Der periodische Ablauf der Adventivwurzelbildung

Bei guter Ernährung des regenerierenden Internodiums (wenn die Keimblätter vorhanden sind) und guter Wasserversorgung läuft die Adventivwurzelbildung in vier Perioden („Wellen") ab (Abb. 1—5). Bei Berücksichtigung der Ergebnisse aller Abschnitte dieser Arbeit gewinnt man über die Entstehungsgeschichte der einzelnen Bewurzelungswellen Klarheit.

Am leichtesten fällt das bei der 1. Welle, weil eine Erbsensorte zur Verfügung steht („*Saxa*") bei der diese erste Welle fehlt (Abschnitt 4). Die Versuche mit dieser Sorte lassen erkennen, *daß es sich bei der 1. Welle um das Auswachsen vorgebildeter Wurzelanlagen handelt.* Das stimmt auch mit morphologischen Beobachtungen überein. SCHMIDT (1956) fand bei der Erbsensorte „*Senator*" an 1. Internodien je 1—5 Wurzelanlagen; und in allen Versuchen dieser Arbeit umfaßte die 1. Welle 25—35 Wurzeln je 10 Pflanzen. Die 1. Welle ist von allen in dieser Arbeit untersuchten Faktoren unabhängig: von den Knospen (Tabelle 7), von Auxin (Tabelle 10), von der Wurzel (Tabelle 8), von extrahierten Hemmstoffen (Tabelle 17). Dadurch unterscheidet sie sich von allen anderen Wellen. Der Grund ist wohl, daß der Auxinbedarf für das Austreiben von Wurzelanlagen sehr gering ist (optimal ist etwa IES 10^{-7} g/cm^3: LIBBERT 1956a), und daß dieser Konzentration äquivalente Auxinmengen in den mit Kotyledonen ausgerüsteten Internodien vorhanden sind. Hemmende Faktoren (Auxinüberschuß, Hemmstoffe) können das Auswachsen der Wurzelanlagen zwar verzögern; aber im Endeffekt wachsen doch stets alle vorhandenen Anlagen aus, so daß die Zahl der Wurzeln der 1. Welle konstant bleibt. Die Entstehung dieser Wurzeln ist keine Regenerationserscheinung, sie erfolgt bei genügender Feuchtigkeit auch an der intakten Pflanze.

Alle übrigen Wellen werden durch Knospen (Tabelle 7) und durch IES (Tabelle 10) gefördert. Es handelt sich um Neubildungen, deren Auxinoptimum viel höher, über 10^{-4} g/cm³ liegt (S. 170, vgl. auch Libbert 1956a). Das Einsetzen der 2.—4. Welle wird dann, wenn der Stengel auxinarm ist, durch das Abschneiden der Wurzeln induziert (Abb. 4), ist also eine Regenerationserscheinung.

Die Wurzeln der 2. Welle entstehen, bevor nach Abschneiden der Primärwurzel eine basale Auxinanreicherung stattfindet, *als Folge des Wegfalls der von der Wurzel ausgehenden Hemmung* (Abb. 4). Sie verteilen sich über die ganze Länge des regenerierenden Internodiums. Bei guter Wasser- und Auxinversorgung und herabgesetzter Aktivität der Wurzel (Wurzel in feuchter Luft nur langsam wachsend) entstehen sie auch, ohne daß die Wurzel entfernt wird; aber in geringer Zahl (z. B. Tabelle 8, Versuch 4—7; Tabelle 18): Über ihre Entstehung entscheidet also ein Auxin-Hemmstoff-Gleichgewicht. Das geht gut daraus hervor, daß die 2. Welle nicht nur durch Vorhandensein der Wurzel (Tabelle 8), sondern auch durch experimentelle Zufuhr der extrahierten Wurzelhemmstoffe gehemmt werden kann (Tabelle 17), und daß die Hemmung durch Auxinzufuhr herabgesetzt oder aufgehoben wird (Tabelle 18). — Daß die 2. Welle, ebenso wie die erste, basal einsetzt und das Internodium „hinaufsteigt" (Abb. 1B, Abb. 2), wird auf 2 Komponenten beruhen: Der größten Bewurzelungstendenz basaler Internodienteile durch ihr geringes „Physiologisches Alter" (Libbert 1956a) und dadurch, daß die Auxinkonzentration im basalen Teil des Internodiums am höchsten, im apikalen Teil am geringsten ist.

Auch die Entstehung der Wurzeln der 3. Welle, die streng auf die Basis des regenerierenden Internodiums lokalisiert ist, wird theoretisch durch ein Auxin-Hemmstoff-Gleichgewicht geregelt. Hier ist das Gleichgewicht jedoch stark zur Seite des Auxins verschoben. *Die 3. Welle geht auf die basale Auxinanreicherung zurück.* Infolgedessen wird ihre Entstehung nicht nur bei geringem Auxingehalt, sondern stets, durch das Abschneiden der Wurzel induziert (Vorhandensein der Wurzel unterdrückt die 3. Welle völlig), wobei aber weniger der Fortfall der von der Wurzel ausgehenden Hemmstofflieferung als die Schaffung einer Schnittfläche und die damit verbundene Möglichkeit einer basalen Auxinstauung wirksam ist. Durch Zufuhr der extrahierten Hemmstoffe wird die 3. Welle wegen des hohen Auxingehalts an ihrem Entstehungsort nicht beeinflußt (Tabelle 17); und die völlige Unterdrückung der 3. Welle durch Vorhandensein der Wurzel kann durch Auxinzufuhr nicht aufgehoben werden (Tabelle 18), weil sie nicht auf Hemmstofflieferung der Wurzel beruht. Daß aber auch in die Wurzelbildung während der 3. Welle der Hemmstoff mit eingreift, zeigen die Tabellen 13 und 14.

Gleichzeitig mit dem Einsetzen der 3. Welle hört die 2. Welle auf. Sicherlich ist das eine Konkurrenzerscheinung, die auf der starken Hemmstoffabgabe der in großer Menge an der Basis entstehenden Wurzeln beruht. Das Abklingen der 3. Welle wird mit dem lokalen Verbrauch von bestimmten (möglicherweise unspezifischen) Wurzelbildungsfaktoren am Bildungsort zu erklären sein. In dem Maße, wie diese Faktoren nachgeliefert werden, läuft die 3. Welle langsam weiter.

Die Deutung der *4. Welle* bereitet die meiste Schwierigkeit. Da diese Wurzeln sich wieder entlang der ganzen Achse des regenerierenden Internodiums bilden, wäre eine *Deutung ganz analog der Entstehung der Wurzeln der 2. Welle möglich.* Sie kann darum wieder einsetzen, weil infolge der Abnahme der Wurzelbildung an der Basis (3. Welle) die Konkurrenz (Hemmstoffabgabe) nachläßt. Warum setzt aber die 4. Welle wieder an der Basis (Abb. 1B, Abb. 2) ein? Sicherlich ist hier die (im Unterschied zur 2. Welle) nun vorhandene basale Auxinanreicherung stärker beteiligt. Die Beobachtung, daß die 4. Welle meist in periodischer Wiederkehr mehrfach an der Basis ansetzt, so daß es aussieht, als gingen laufend Bewurzelungsimpulse von der basal ablaufenden 3. Welle aus (S. 163, Abb. 2), ist mit dieser Ansicht in Zusammenhang zu bringen: Sicherlich gibt es in der Folge des durch eine derart tiefgehende Operation, wie es die Entfernung der Wurzel darstellt, stark durcheinander geratenen Auxinstoffwechsels lokale Auxinstauungen nicht nur an der äußersten Basis, sondern auch an verschiedenen Orten des Internodiums, die sich dann, wenn der Auxintransport an einer Stelle blockiert wird, nach rückwärts, d. h. apikalwärts, fortpflanzen. Dem kann dann die Adventivwurzelbildung folgen. — In der 4. Welle erhält der Hemmstoff wieder größere Regulationsfunktion als in der 3. Welle, was sich darin ausdrückt, daß die 4. Welle wie die 2. durch Hemmstoffzufuhr gehemmt werden kann (Tabelle 17), und daß die Hemmung der 4. Welle durch die Wurzel (ebenso wie bei der 2. Welle) durch IES (Tabelle 18) sowie auch durch die Knospen (Tabelle 8) aufgehoben werden kann. —

Über den periodischen Verlauf der Adventivwurzelbildung geht aus einer Veröffentlichung von MÜLLER (1935) einiges hervor: MÜLLER verfolgte an einknotigen *Tradescantia*-Stecklingen den täglichen Verlauf der Adventivwurzelbildung, die zunächst aus Wurzelanlagen im Knoten erfolgte, und erfaßte sie kurvenmäßig. Sie erhielt an beblätterten Stecklingen Kurven, die im Anfang zweigipflig waren (mit Bewurzelungsmaximalwerten am 4. und 6. Tag); das ist bei 3 von 4 Kurven sichtbar. Bei Auxinzufuhr erfolgte regelmäßig ein erneuter Kurvenanstieg vom 8. bis 10. oder vom 12. bis 13. Tag; auch MÜLLER setzte diesen erneuten Anstieg mit Wurzelneubildungen in Zusammenhang. Bei unbeblätterten Stecklingen (mit Auxinzufuhr) zeigten nur 2 von 3 Kurven anfangs schwache Zweigipfligkeit, die dritte gar nicht.

Eine ausführliche Literaturbesprechung des Einflusses besonders der Wurzel, aber auch von Knospen, Blättern usw. vgl. Sammelreferat LIBBERT 1956c.

Wichtigste Ergebnisse

1. Knospen haben einen doppelten Einfluß auf die Adventivwurzelbildung: a) Eine Förderung durch Lieferung von Auxin; b) eine Förderung durch einen anderen Faktor, der auch in der Sproßachse vorhanden ist, der die unterschiedliche Bewurzelungsfähigkeit verschieden langer isolierter Internodien bewirkt, und der an Internodien mit Kotyledonen erst dann wirkt, wenn die Knospen kräftig treiben.

2. An isolierten Internodien hemmt eventuelles Vorhandensein des Hypokotyls die Wurzelbildung.

3. Abschneiden der Wurzel fördert die Adventivwurzelbildung. a) Das beruht nicht auf einer Wundhormonwirkung: Verletzungen allein sind wirkungslos. b) Das beruht nicht allein auf einer basalen Auxinstauung, sondern auch auf dem Fortfall eines von der Wurzel gelieferten Hemmstoffes, der die Adventivwurzelbildung beeinflußt, denn: c) unter verschiedenen Versuchsbedingungen kann trotz Anwesenheit von Wurzeln basale Auxinstauung erreicht werden; dann enthält der regenerierende Teil trotz gehemmter Adventivwurzelbildung viel Auxin, aber auch viel Hemmstoff.

4. Der aus Wurzeln mit Äther extrahierbare Hemmstoff hemmt die Adventivwurzelbildung.

5. Die von der Wurzel ausgehende Hemmung der Wurzelbildung kann durch Indol-3-Essigsäure aufgehoben und durch austreibende Knospen herabgesetzt werden.

6. Bei Aufhebung der von der Wurzel ausgehenden Hemmung durch IES wird ein zweiter, die Adventivwurzelbildung fördernder Einfluß der Wurzel deutlich.

7. Bei guter Nährstoff- und Wasserversorgung verläuft die Adventivwurzelbildung periodisch in 4 aufeinanderfolgenden, experimentell trennbaren Wellen: a) Zuerst entstehen Wurzeln aus Wurzelanlagen. Dieser Vorgang ist nicht auxin- und hemmstoffempfindlich. b) Nach Abtrennung der Wurzel entstehen durch den Fortfall des Wurzel-Hemmstoffes Wurzeln entlang der Sproßachse. Dieser Vorgang ist sehr hemmstoffempfindlich. c) Dann entstehen durch basale Auxinstauung streng basale Wurzeln. Dieser Vorgang ist wenig hemmstoffempfindlich. d) Bei Abnahme der basalen Adventivwurzelbildung entstehen erneut Wurzeln entlang der Sproßachse. Dieser Vorgang ist sehr hemmstoffempfindlich.

Frl. Hildegard Lübke war an der Durchführung und Auswertung der Versuche maßgeblich beteiligt, wofür ihr mein besonderer Dank gilt.

Literatur

Bouillenne, R., et H. Beltcheva: C. r. Soc. Biol. Paris **109**, 575 (1932). Zit. Bouillenne u. Went 1933. — Bouillenne, R., et F. W. Went: Recherches

expérimentales sur la néoformation des racines dans les plantules et les boutures des plantes supérieures. (Substances formatrices de racines.) Ann. Jard. bot. Buitenzorg **43**, 25 (1933). — BOYSEN JENSEN, P.: Quantitative Bestimmung der beschleunigenden Streckungswuchsstoffe in der sauren Fraktion der Ätherextrakte aus höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **31**, 653 (1941). — BÜRCKNER, E.: Über Stecklingsversuche an Zebrina pendula Schnizlein und Zebrina Purpusii Brückner. Beitr. Biol. Pflanz. **22**, 103 (1934). — CAMUS, G.: Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse. Rev. Cytol. et Biol. végét. **11**, 1 (1949). — CASTAN, M. R.: Sur le rôle des hormones animales et végétales dans le développement et l'organogénèse des plantes vasculaires: Les „organisateurs" végétaux. Rev. gén. Bot. **52**, 234 (1940). — DORFMÜLLER, W.: Lichtwirkung und Wuchsstoffe in ihrer Bedeutung für die Bewurzelung von Commelinaceen-Stecklingen. Jb. wiss. Bot. **86**, 420 (1938). — DOSTÁL, R.: Über die wachstumsregulierende Wirkung des Laubblattes. Acta Soc. Sci. Nat. Moravicae **3**, 83 (1926). — GAUTHERET, R. J.: Recherches sur la polarité des tissus végétaux. Rev. Cytol. et Cytophysiol. végét. **7**, 45 (1944). — GEIGER-HUBER, M.: Über korrelative Erscheinungen bei der Bildung von Wurzeln an Stecklingen. Verh. naturforsch. Ges. Basel **51**, Teil 2, 170 (1940). — GUTHRIE, J. D.: Effect of ethylene thiocyanhydrine, ethyl carbylamine and indoleacetic acid on the sprouting of potato tubers. Contrib. Boyce Thompson Inst. **9**, 265 (1938). — Control of bud growth and initiation of roots at the cut surface of potato tubers with growth-regulating substances. Contrib. Boyce Thompson Inst. **11**, 29 (1939). — HITCHCOCK, A. E., and P. W. ZIMMERMAN: The use of green tissue test objects for determing the physiological activity of growth substances. Contrib. Boyce Thompson Inst. **9**, 463 (1938). — JONES, W. N.: Polarity phenomena in seakale roots. Ann. of Bot. **39**, 359 (1925). — KEEBLE, F., M. G. NELSON and R. SNOW: The integration of plant behaviour. II. The influence of the shoot on the growth of roots in seedlings. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **106**, 182 (1930). — LEK, H. A. A. VAN DER: Over de wortelvorming van houtige stekken. Meded. Landbouwhoogeschool Wageningen **28**, 1 (1924). — Versuche über den Einfluß von niedrigen Temperaturen auf die Wurzelbildung von Stecklingen. Gartenbauwiss. **7**, 365 (1933). — Over den invloed der knoppen op de wortelvorming der stekken. Meded. Landbouwhoogeschool Wageningen **38**, Nr 2 (1934). — LIBBERT, E.: Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. I. Mitt. Planta (Berl.) **44**, 286 (1954). — II. Mitt. Planta (Berl.) **45**, 68 (1955a). — Die Bedeutung wurzeleigener Hemmstoffe für das Wurzelwachstum. Naturwiss. **42**, 158 (1955b). — Nachweis und chemische Trennung des Korrelationshemmstoffes und seiner Hemmstoffvorstufe. Planta (Berl.) **45**, 405 (1955c). — Der Einfluß von Blatt und Wurzel auf die auxininduzierte korrelative Knospenhemunng. Flora (Jena) **142**, 619 (1955d). — Die Hydrolyse des „Korrelationshemmstoffes" zu Auxin. Planta (Berl.) **46**, 256 (1955e). — Untersuchungen über die Physiologie der Adventivwurzelbildung. I. Die Wirkungsweise einiger Komponenten des „Rhizokalinkomplexes". Flora (Jena) **144**, 121 (1956a). — III. Untersuchung der Hemmstoffe, mittels derer eine Wurzel die Adventivwurzelbildung beeinflußt. Z. Bot. **1956**b. — IV. Physiologische Untersuchungen über CASTANS „Polaritätsumkehr". Ber. dtsch. bot. Ges. **1956**d. — Die hormonale und korrelative Steuerung der Adventivwurzelbildung. Ein kritisches Sammelreferat. Wiss. Z. Univ. Berlin, Math.-naturwiss. **1956**c. — LINDNER, R. C.: Factors affecting regeneration of the horseradish root. Plant Physiol. **15**, 161 (1940). — MOLISCH H.: Das knospenlose Internodium als Steckling behandelt. Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 575 (1935). — MÜLLER, A. M.: Über den Einfluß von Wuchsstoff auf das Austreiben der Seitenknospen und auf die Wurzelbildung. Jb. wiss. Bot. **81**, 497 (1935). — NĚMEC, B.: Ernährung, Organogenese und Regeneration. Mém. Soc. roy. Sci. Bôheme, Cl.Sci. **1934**, Nr 7. — OVERBEEK, J. VAN,

and L. E. Gregory: A physiological separation of two factors necessary for the formation of roots on cuttings. Amer. J. Bot. **32**, 336 (1945). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152 (1943). — Plett, W.: Untersuchungen über die Regenerationserscheinungen an Internodien. Diss. Hamburg 1921. — Rappaport, J.: Hemmung des Sproßaustriebes und gleichzeitige Förderung der Wurzelbildung bei Cordyline-Stecklingen unter Einfluß synthetischer Wuchsstoffe. Biol. Jaarboek, Dodonaea **6**, 286 (1939). Ropp, R. S. de: The response of normal plant tissues and of crown-gall tumor tissue to synthetic growth hormones. Amer. J. Bot. **34**, 53 (1947). — Schmidt, E.: Anatomische Untersuchung über das Vorkommen von Wurzelanlagen in verschiedenen Internodien von Pisum sativum. Flora (Jena) **144**, 151 (1956). — Skoog, F.: Growth and organ formation in tobacco tissue cultures. Amer. J. Bot. **31**, 19 (1944). — Stephenson, R. D.: Effects of certain growth regulating substances on growth correlation in lettuce seedlings. Plant Physiol. **18**, 37 (1943). — Thimann, K. V., and E. F. Poutasse: Factors affecting root formation of Phaseolus vulgaris. Plant Physiol. **16**, 585 (1941). — Thimann, K. V., and F. W. Went: On the chemical nature of the rootforming hormone. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **37**, 456 (1934). — Way, D. W.: The relationship of diameter to regenerative organ differentiation in apple roots. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Ser. C **57**, 601 (1954). — Went, F. W.: On an substance causing root formation. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **32**, 35 (1929). — A test method for rhizocaline, the rootforming substance. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **37**, 445 (1934). — Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. Plant Physiol. **13**, 55 (1938). — The dual effect of auxin on root formation. Amer. J. Bot. **26**, 24 (1939a). — Growth hormones in the higher plant. Annual Rev. Biochem. **8**, 521 (1939b). — Analysis and integration of various auxin effects. I., II. Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. **42**, 581 und 731 (1939c). — Went, F. W., and K. V. Thimann: Phytohormones. New York 1937.

Dozent Dr. E. Libbert, Berlin N 4, Hannoversche Str. 27/29, Abteilung Botanik

Planta, Bd. 48, S. 190—199 (1956)

Aus dem Forstbotanischen Institut München

FRÜHJAHRSBLUTUNGSSAFT ALS NÄHRBODEN FÜR DIE KULTUR ISOLIERTER WURZELN *

Von

HUBERT ZIEGLER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. August 1956)

Einleitung

Im Siebröhrenschaft von *Robinia pseudoacacia* L. können isolierte Wurzeln derselben Art nicht gedeihen; ist der unveränderte Saft infolge seines hohen Zuckergehaltes (um 20%) osmotisch unverträglich, so ist das Ausbleiben des Wurzelwachstums im entsprechend verdünnten Saft möglicherweise auf eine Verringerung anderer unentbehrlicher Stoffe unter das Minimum zurückzuführen (ZIEGLER 1956). Während sich in den Assimilatleitbahnen demnach im allgemeinen kein ausgewogener „Bildungssaft", sondern ein spezieller „Transportsaft" bewegt, der deshalb beim Eintritt in die Leitgewebe und bei der Entnahme aus ihnen spezifischen Umformungen unterliegt, schien der wesentlich zuckerärmere (Höchstgehalt etwa 5%) Frühjahrsblutungssaft mancher Laubbäume von vornherein als Wurzelnährlösung wesentlich geeigneter.

Wenn auch ein exakter qualitativer und quantitativer Vergleich der Salzgehalte des durch den Wurzeldruck bewegten Frühjahrssaftes und des während der übrigen Vegetationsperiode durch die Transpiration geförderten Saftstromes noch aussteht, so ist es doch wahrscheinlich, daß auch der Blutungssaft alle für das Gedeihen der oberirdischen Pflanzenteile notwendigen Mineralsalze enthält. Stimmt nun die Wurzel in ihren Salzansprüchen mit dem Sproß überein, so sollte der Stammblutungssaft infolge seines Zuckergehaltes auch der heterotrophen Wurzel ein Wachstum ermöglichen, vorausgesetzt, daß diese keine anderweitigen Wuchs- und Wirkstoffe benötigt und keine spezifischen Hemmstoffe im Blutungssaft vorhanden sind. Diese Annahme sollte in der vorliegenden Arbeit geprüft werden.

A. Material und Methoden

Der Blutungssaft wurde in der früher beschriebenen Weise (l.c.) in der Zeit vom 20.—25. 3. 56 aus *Acer platanoides* L., *A. pseudoplatanus* L., *Alnus glutinosa* (L). GAERTN., *Betula pendula* ROTH, *B. pubescens* EHRH., *Carpinus betulus* L. und *Juglans regia* L. gewonnen. Aus *Vitis vinifera* L. (einem Spalierstock) wurde der Saft nach Abschneiden der verholzten Triebenden und Einführen des Stumpfes

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

durch die Bohrung eines Stopfens in einem Glaskolben aufgefangen. Die gewonnenen Lösungen wurden gleich nach der Zapfung durch Passieren eines Bakterienfilters sterilisiert und bis zur Verarbeitung gekühlt aufbewahrt.

Zur Gewinnung steriler Wurzeln kamen die Samen von *Zea mays* L. („Allerfeinste Zucker"), *Robinia pseudoacacia*, *Acer platanoides* und *Betula pubescens* nach Befreiung von anhaftenden Teilen 15 min in konzentrierte Chlorkalklösung und anschließend 5 min in 96%iges Äthanol mit einigen Tropfen 30%igem Perhydrol und dann nach gründlichem Wässern mit sterilem Wasser auf 1,5%igen aqua dest.-Agar in PETRI-Schalen zum Keimen. Hatten die Keimwurzeln eine Länge von etwa 2 cm erreicht, so wurden die Wurzelspitzen (jeweils etwa 3 mm) steril abgetrennt und auf die Nährmedien übertragen.

Zur Bereitung der Agarkulturen wurden dem Blutungssaft 1,8% Agar zugesetzt und nach Hitzesterilisierung der Nährböden in Reagenzgläsern schräg erstarren gelassen. Bei den Flüssigkeitskulturen kamen je 20 ml Nährlösung in 50 ml Weithalskölbchen, die nach sterilem Einbringen von je 3 Wurzeln mit einem Wattepfropf verschlossen und in einem Thermostaten bei 25° C ($\pm$ 0,05° C) mit einer Frequenz von 120 Schwingungen/min geschüttelt wurden. In einer Serie konnten dabei 7 Proben (mit 21 Wurzeln) geprüft werden. Zum quantitativen Vergleich des Zuwachses wurden die Wurzeln nach Ende des Versuchs gemessen und das Trockengewicht in der üblichen Weise gestimmt. Die Saccharose in den Blutungssäften wurde mit dem Handrefraktometer nach ZEISS, die reduzierenden Zucker (die freien, bzw. die Gesamtzucker nach vollständiger Hydrolyse des Saftes in 3%iger H_2SO_4 bei 100° C) mit der TTC-Methode nach WALLENFELS (vgl. PAECH und TRACEY 1955) bestimmt.

Die Aminosäuregehalte des *Juglans*- und *Vitis*-Blutungssaftes wurden papierchromatographisch (auf Whatmann Nr. 1) nach der auf- und absteigenden Methode ermittelt. Zur Verwendung kamen Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1) und wassergesättigtes Phenol als Lösungsmittel, Ninhydrin als Entwickler. Die Hydrolyse des Glutamins erfolgte mit 20%iger HCl im zugeschmolzenen Glasröhrchen bei 100° C (24 Std). Die Säure wurde im Vakuumexsiccator über angefeuchteten KOH-Plätzchen abgedunstet, der Rückstand in aqua dest. aufgenommen und zur Chromatographie verwendet.

Der Stickstoff wurde nach der Mikro-KJEDAHL-Methode bestimmt. Vorgelegt wurde n/50 HCl, rücktitriert mit n/50 NaOH mit Methylrot + Bromkresolgrün als Indicator.

B. Ergebnisse

1. Das Wachstum isolierter Wurzeln auf Blutungssaftagar

Wie aus Tabelle 1 und Abb. 1 ersichtlich, ermöglichen alle untersuchten Blutungssäfte den Wurzeln von *Zea mays* eine beträchtliche Verlängerung. Sie bewegt sich bei *Acer*, *Betula* und *Carpinus* in derselben Größenordnung und ist bei *Juglans* erheblich stärker, erreicht

Tabelle 1. *Wachstum isolierter Maiswurzeln* (Ausgangslänge jeweils 3 mm) *auf synthetischem Nährboden und auf Blutungssaftagar verschiedener Arten* (Kulturdauer 14 Tage)

	Nährlösung nach WHITE	*Acer plat.*	*Acer pseudo-plat.*	*Betula pub.*	*Carpinus bet.*	*Juglans regia*
Endlänge	42 mm	19 mm	18 mm	21 mm	17 mm	27 mm
Steigerung gegen den Ausgangswert	14fach	6,3fach	6fach	7fach	5,7fach	9fach

aber die Werte des Zuwachses in der vollsynthetischen Nährlösung nach WHITE (1946), nach der Modifikation von KANDLER (1950) mit

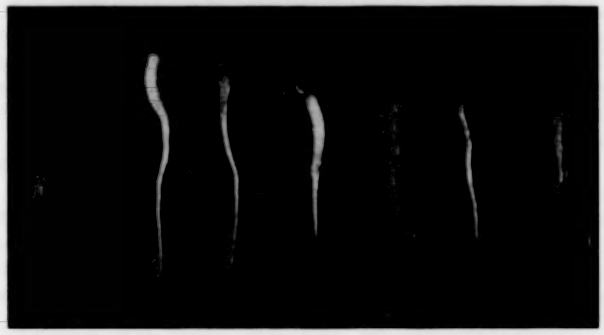

Abb. 1. Isolierte Wurzeln von *Zea mays*. Von links nach rechts: Ausgangszustand; nach 14tägiger Kultur auf Blutungssaft von *Juglans regia* (zwei Wurzeln), *Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Betula pubescens* und *Carpinus betulus*

2% Glucosegehalt in keinem Falle. Auffallend ist dabei die Hemmung der Seitenwurzelbildung auf den Blutungssaft-Nährböden.

Robinienwurzeln genügt der angegebene synthetische Nährboden offenbar nicht zu ansehnlicherem Wachstum; sie gedeihen auf den Blutungssaftnährböden wesentlich besser (Tabelle 2, Abb. 2).

Abb. 2. Isolierte Wurzeln von *Robinia pseudoacacia*. Von links nach rechts: Ausgangszustand; nach 14tägiger Kultur auf Blutungssaft von *Juglans regia*, *Acer platanoides*, *Carpinus betulus*, *Betula pubescens* und auf Nähragar nach WHITE

Tabelle 2. *Wachstum isolierter Robinienwurzeln* (Ausgangslänge jeweils 3 mm) *auf synthetischem Nährboden und auf Blutungssaftagar verschiedener Arten* (Kulturdauer 14 Tage)

	Nährlösung nach WHITE	*Acer plat.*	*Betula pub.*	*Carpinus bet.*	*Juglans regia*
Endlänge	6,6 mm	15 mm	15,6 mm	20 mm	24 mm
Steigerung gegen den Ausgangswert	2,2fach	5fach	5,2fach	6,7fach	8fach

Auch für Robinienwurzeln stellt demnach der *Juglans*-Blutungssaft ein besonders günstiges Medium dar.

Besonders interessant schien die Prüfung der Frage, ob die Blutungssäfte für die Wurzeln derselben Art als Nährboden taugen. Wir konnten Wurzeln von *Acer pseudoplatanus* und *Betula pubescens* auf dem jeweiligen Blutungssaftagar für eine gewisse Zeit zu beträchtlichem Wachstum bringen; so verlängerten sich Ahornwurzeln in 14 Tagen auf das 3 — 4fache, Birkenwurzeln auf das 6 — 7fache und die Wurzeln der Hainbuche auf das 5fache der Ausgangslänge.

2. Vergleich des Wurzelwachstums im Blutungssaft mit dem in synthetischen Nährlösungen entsprechenden Zuckergehaltes

Aus den beschriebenen Resultaten läßt sich entnehmen, daß die Blutungssäfte der verschiedenen Bäume isolierten Wurzeln recht wohl als Nährlösung dienen können, im Falle der Robinienwurzeln im länger dauernden Versuch einer synthetischen Salz-Zuckerlösung sogar eindeutig überlegen sind. Für die Beurteilung des Salzgehaltes der Blutungssäfte schien nun aber ein quantitativer Vergleich mit der Förderwirkung einer vollständigen, harmonischen Salzlösung erwünscht; dabei mußte der Zuckergehalt der synthetischen Lösung der jeweiligen Konzentration der verschiedenen Blutungssäfte angepaßt werden.

Wir benützten zu diesen Versuchen Maiswurzeln, weil sie sich einerseits in einem vollsynthetischen, definierten Medium gut entwickeln, und zum andern sich leicht in größeren Mengen steril heranziehen lassen.

Da wir zunächst nicht wußten, ob durch eine Hitzesterilisierung eventuell fördernde oder hemmende Substanzen verändert würden, wurde für jeden Blutungssaft eine Serie (21 Wurzeln) in der heißsterilisierten und eine Serie in der kaltsterilisierten Nährlösung geprüft. Wie aus den Abb. 3 — 6 ersichtlich, ist der Zuwachs in beiden Fällen praktisch gleich, d. h. hitzelabile Substanzen von wesentlichem Einfluß auf das Wurzelwachstum sind im Blutungssaft nicht vorhanden. Diesbezügliche Bedenken sind demnach auch gegen die Ergebnisse der Agarkulturen nicht vorzubringen.

Aus den Abb. 3 — 6 geht weiter hervor, daß nur im *Juglans*-Blutungssaft der Zuwachs und die Trockengewichtszunahme der Maiswurzeln etwa dieselben Werte erreichte wie in entsprechenden Zuckerlösungen mit vollständigem, harmonischem Salzgehalt, in allen anderen untersuchten Säften aber das Wachstum mehr oder weniger deutlich zurückblieb.

War nun dieses Zurückbleiben des Längenwachstums und der Trokkengewichtszunahme auf das Fehlen eines oder mehrerer Stoffe, auf das Vorhandensein eines oder mehrerer Hemmstoffe oder aber auf eine gewisse Unausgewogenheit der Ionen im Blutungssaft zurückzuführen?

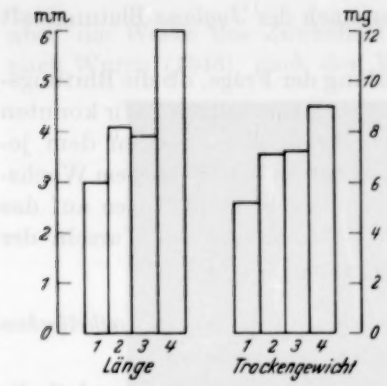

Abb. 3. Länge und Trockengewicht isolierter Maiswurzeln zu Beginn des Versuches (*1*), nach 24stündiger Kultur in kaltsterilisiertem (*2*) und heißsterilisiertem (*3*) Blutungssaft von *Acer platanoides* und nach 24stündiger Kultur in synthetischer Nährlösung desselben Gesamtzuckergehaltes (1,62 % Glucose; *4*)

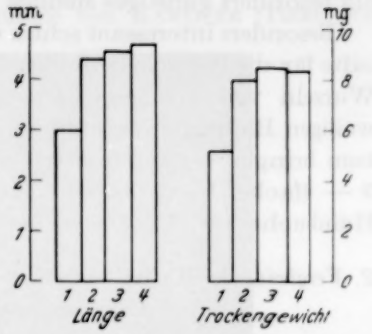

Abb. 4. Länge und Trockengewicht isolierter Maiswurzeln zu Beginn des Versuches (*1*), nach 24stündiger Kultur in kaltsterilisiertem (*2*) und heißsterilisiertem (*3*) Blutungssaft von *Juglans regia* und nach 24stündiger Kultur in synthetischer Nährlösung desselben Gesamtzuckergehaltes (1,35 % Glucose; *4*)

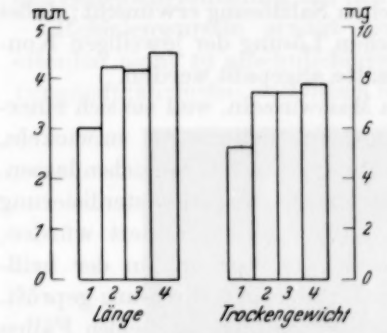

Abb. 5. Länge und Trockengewicht isolierter Maiswurzeln zu Beginn des Versuches (*1*), nach 24stündiger Kultur in kaltsterilisiertem (*2*) und heißsterilisiertem (*3*) Blutungssaft von *Betula pubescens* und nach 24stündiger Kultur in synthetischer Nährlösung desselben Gesamtzuckergehaltes (1,25 %; *4*)

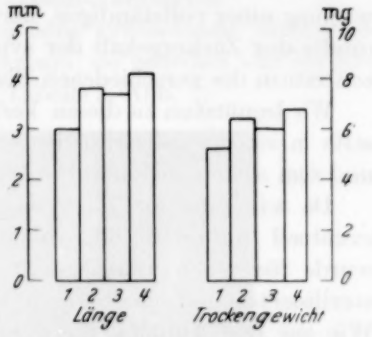

Abb. 6. Länge und Trockengewicht isolierter Maiswurzeln zu Beginn des Versuches (*1*), nach 24stündiger Kultur in kaltsterilisiertem (*2*) und heißsterilisiertem (*3*) Blutungssaft von *Vitis vinifera* und nach 24stündiger Kultur in synthetischer Nährlösung desselben Zuckergehaltes (0,07 % Glucose; *4*)

3. Analyse der „Hemmwirkung" der Blutungssäfte

Die erste Erklärungsmöglichkeit für das Zurückbleiben des Wurzelwachstums in einigen Blutungssäften, nämlich das Fehlen eines bestimmten, unentbehrlichen Salzes, ließ sich leicht dadurch entscheiden, daß der Zuwachs der Maiswurzeln in reiner Glucoselösung, ohne jede Salzzugabe, gemessen wurde. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, ist in den kurzfristigen Versuchen die Streckung in reinen Zuckerlösungen praktisch ebenso groß wie in Zuckerlösungen mit komplettem Salzgehalt und

wesentlich höher als im Blutungssaft derselben Zuckerkonzentration (des Ahorns). Offenbar sind die Salzreserven im Innern des Organs für diese kurze Spanne ausreichend, um den gebotenen Zucker zu verarbeiten.

Tabelle 3. *Längen- und Trockengewichtszunahme von Maiswurzeln im Blutungssaft von Acer platanoides und in verschiedenen Nährlösungen.* Mittel aus 21 Proben, Kulturdauer 24 Std. (Ausgangslänge jeweils 3 mm, ursprüngliches Trockengewicht 5,25 mg je 21 Stück)

	Acer-Blutungssaft (1,62 % Glucose)	Nährlösung nach WHITE (1,62% Glucose)	Glucose-lösung ohne Salze (1,62%)
Endlänge	4,1 mm	6,05 mm	6,0 mm
Endtrockengewicht (je 21 Stück) .	7,2 mg	9 mg	8,5 mg

Daß auch in Salzlösungen ohne Zucker eine gewisse Streckung und eine geringe Trockengewichtszunahme möglich ist, zeigte ein weiterer Versuch. In Leitungswasser streckten sich Maiswurzeln von 3 mm auf 3,4 mm (Mittel aus 21 Proben), wobei das Trockengewicht von 5,25 auf 5,8 mg zunahm; in der kompletten WHITEschen Salzlösung (ohne Zucker) betrug die Endlänge 3,9 mm und das Trockengewicht 6 mg.

Tabelle 4. *Längen- und Trockengewichtszunahme von Maiswurzeln in Nährlösung mit (a) und ohne (b) Blutungssaftzusatz.* (Kulturdauer 24 Std)

	Endlänge mm	Endtrockengewicht mg
a	6,4	9,2
b	6,1	9,0

Das Zurückbleiben des Wurzelwachstums in den erwähnten Blutungssäften ist demnach nicht auf das Fehlen eines unumgänglich nötigen Salzes zurückzuführen. Beruhte es auf dem Vorhandensein eines oder mehrerer Hemmstoffe? Auch diese Frage war leicht zu prüfen: Es wurden dazu in einer Serie in die Kulturgefäße 15 ml WHITEsche Nährlösung mit dem Zuckergehalt des Ahornsaftes (1,62% Glucose) + 5 ml Ahornblutungssaft und in einer zweiten Serie 20 ml synthetische Lösung gegeben und der Zuwachs der Maiswurzeln verglichen. Waren im Blutungssaft Hemmstoffe vorhanden, so mußte im ersten Fall das Wachstum verlangsamt sein. Wie Tabelle 4 zeigt, trat das Gegenteil ein: Der Blutungssaftzusatz beschleunigte Längen- und Trockengewichtszunahme schwach, aber merklich.

Es blieb demnach letztlich noch an eine gewisse Unausgewogenheit in der Salzzusammensetzung, an eine nichtausbalancierte Ionenwirkung im Blutungssaft zu denken.

Vergleichen wir den Salzgehalt der WHITEschen Nährlösung (modifiziert nach KANDLER) mit dem des Birkenblutungssaftes, über den einigermaßen vollständige Angaben vorliegen (SCHROEDER 1869), so kommen wir zu folgenden Werten (Tabelle 5).

Tabelle 5. Salzgehalt in mg/Liter

	K^+	Na^+	Mg^{++}	Ca^{++}	Fe	PO_4^{---}	N	SO_4^{--}	Cl^-
Birkenblutungssaft (mittlere Werte nach SCHROEDER)	72	*8*	30	*160*	+	6	24	*12*	*5*
WHITEsche Nährlösung .	70	*66*	36	*34*	+	3	12	*144*	*30*

Der Birkenblutungssaft ist gegenüber der Nährlösung demnach vornehmlich durch das starke Zurücktreten von Na^+-, SO_4^{--}- und Cl^--Ionen und durch den erheblich gesteigerten Calciumgehalt charakterisiert. Es schien denkbar, daß durch Angleichung des Salzgehaltes des Blutungssaftes an den der Nährlösung eine Ausbalancierung der Ionen erreicht und damit eventuell die Hemmwirkung beseitigt werden könnte.

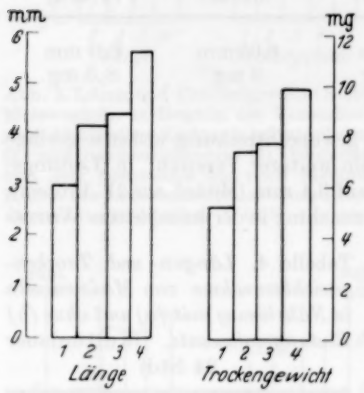

Abb. 7. Länge und Trockengewicht isolierter Maiswurzeln zu Beginn des Versuches (*1*), in kaltsterilisiertem Blutungssaft von *Betula pubescens* (*2*), in der synthetischen Nährlösung desselben Zuckergehaltes (*3*) und im Birkenblutungssaft nach Zusatz von 150 mg Na_2SO_4 + 50 mg NaCl je Liter (*4*)

Der Zusatz von 150 mg Na_2SO_4 + 50 mg NaCl je Liter Birkenblutungssaft vermehrte nun tatsächlich den Zuwachs von Maiswurzeln (in 24 Std) auf über das Doppelte gegenüber dem Normalblutungssaft und auf das 1,8-fache gegenüber der Nährlösung, das Trockengewicht auf das 2,5fache bzw. 1,9fache (Abb. 7).

Es scheint damit erwiesen, daß nicht nur die relativ geringe Wachstumsdifferenz zwischen den Wurzeln im Blutungssaft und denen in der kompletten Nährlösung, sondern auch die weit größere zwischen den Wurzeln im ausbalancierten Blutungssaft und im Normalsaft durch eine gewisse Disharmonie in der Ionenkombination des Blutungssaftes zu erklären ist.

Der *Juglans*-Blutungssaft, bei dem die Hemmung gegenüber der Nährlösung nicht feststellbar ist, müßte demnach eine — zumindest etwas — ausgeglichenere Ionenzusammensetzung aufweisen. Sein Salzgehalt ist noch zu prüfen.

4. Die organischen Stickstoffverbindungen im Blutungssaft von Juglans regia und Vitis vinifera

Die Förderung von Wachstums- und Trockengewichtszunahme im ionenmäßig ausgeglichenen Blutungssaft, weit über die Wirkung der kompletten Salzlösung mit entsprechendem Zuckergehalt hinaus, beruht wohl auf der Anwesenheit wachstumsfördernder Substanzen; organische Stickstoffverbindungen sind gerade in den letzten Jahren in

zahlreichen Blutungssäften identifiziert worden (MOTHES und Mitarbeiter): so wurden in den von uns verwendeten Blutungssäften Allantoin (in *Acer*, MOTHES und ENGELBRECHT 1952) und Citrullin (in *Betula*, *Carpinus* und *Alnus*; REUTER und WOLFFGANG 1954) als überwiegende Stickstoffsubstanzen (neben einer Anzahl in geringerer Menge vorliegender Aminosäuren und Amide) gefunden. Bei *Juglans*- und *Vitis*-Blutungssäften wurde unseres Wissens eine entsprechende Analyse bisher noch nicht durchgeführt und deshalb hier nachgeholt.

Wie die Tabellen 6 und 7 zeigen, ist das Glutamin im Blutungssaft beider Arten die mengenmäßig weitaus überwiegende, mit Ninhydrin reagierende Substanz, während Asparagin, das zweite Säureamid, ebenso fehlt wie Citrullin, die Hauptstickstoffverbindung der Betulaceen. Das Glutamin wurde dabei außer durch die Bestimmung des R_f-Wertes auch durch den Übergang in Glutaminsäure nach Hydrolyse identifiziert.

Tabelle 6. *Relative (nach Fleckenvergleich geschätzte) Menge der mit Ninhydrin nachweisbaren Verbindungen im Blutungssaft von Juglans regia*

Glutamin	+++++
Glutaminsäure	+
Alanin	++
Asparaginsäure	++
Cystin	+
Lysin	+
Methionin	Sp.
Valin	Sp.
Leucin	Sp.

Tabelle 7. *Relative Menge der mit Ninhydrin nachweisbaren Verbindungen im Blutungssaft von Vitis vinifera*

Glutamin	+++++
Glutaminsäure	+
Alanin	+
Asparaginsäure	Sp.

Die Gesamtstickstoffmengen lagen im *Juglans*-Blutungssaft zwischen 90 und 100,5 mg/Liter, im Saft von *Vitis vinifera* zwischen 28 und 43 mg/Liter (PRIESTLEY und WORMALL 1925, hatten 23 mg N/l bei Vitis gefunden, allerdings nur Spuren organischer Stickstoffverbindungen). Im Vergleich mit den entsprechenden Zuckergehalten (Gesamtmonosen nach Hydrolyse im Saft von *Juglans* 1,35%, von *Vitis* um 0,07%) ist der Stickstoffgehalt des Weines relativ hoch; wir werden darauf noch zu sprechen kommen.

C. Diskussion

Wie aus den geschilderten Ergebnissen hervorgeht, sind die Frühjahrsblutungssäfte aller geprüften Bäume für die Kultur isolierter Wurzeln in vitro geeignet. Immerhin scheint aber auch dieser vom Wurzeldruck bewegte, in den Gefäßen aufsteigende Saft in den meisten Fällen keine völlig ausgewogene Nährlösung darzustellen, wie der quantitative Vergleich des Zuwachses in den Blutungssäften und in Zuckerlösungen mit komplettem, harmonischen Salzgehalt im Kurzversuch gezeigt hat, worauf auch das Fehlen bzw. die Verringerung der Seitenwurzelbildung im Dauerversuch schließen lassen. Wahrscheinlich wird der Blutungssaft erst in den Empfängerzellen, z. B. den Meristemen der Knospen,

seinem Salzgehalt nach voll „harmonisiert", also etwa durch die hier gespeicherten Ionen in ein Gleichgewicht gebracht (sofern man nicht annehmen will, daß die Sproßmeristeme in einem anderen Salzmedium optimal gedeihen als die Wurzeln).

Daß aber im Blutungssaft außer den Salzen und dem Zucker noch andere wachstumsfördernde Substanzen vorhanden sind, zeigt einmal die Überlegenheit des im Salzgehalt ausgeglichenen Saftes gegenüber kompletten Salzlösungen desselben Zuckergehaltes im Kurzversuch und zum andern das Dauerwachstum der isolierten Robinien auf Blutungssaftagar, von Wurzeln also, die auf reinen Zucker-Salzlösungen auf die Dauer nicht gedeihen. Welche Stoffe hier wirksam werden, entzieht sich noch unserer Kenntnis, doch liegt es nahe, an bestimmte Vitamine (etwa Aneurin) zu denken[1].

Es ist aber durchaus wahrscheinlich, daß auch andere Stoffgruppen, wie die im Blutungssaft mehrfach festgestellten organischen Säuren (vgl. u. a. SCHROEDER, WOLF 1938) und vor allem auch die Aminosäuren, wachstumsfördernd wirken. Wie sich in den Untersuchungen von MOTHES und Mitarbeitern (s. oben) gezeigt hat, ist ja die Wurzel an der Bildung organischer Stickstoffverbindungen maßgeblich beteiligt und enthalten die Wurzel- und Stammblutungssäfte stets ansehnliche Mengen dieser Stoffe. Die bisher in dieser Richtung untersuchten Arten lassen sich ihrer Hauptstickstoffverbindung im Blutungsssaft nach in 3 Gruppen gliedern (REUTER und WOLFFGANG): *Allantoin* als vorwiegende Verbindung haben die *Acer*-Arten, *Citrullin* die *Betulaceen (Alnus glutinosa, Betula pubescens, Carpinus betulus* und *Corylus avellana)* und *Säureamide* (Glutamin, Asparagin) bzw. die entsprechenden Aminodicarbonsäuren (Glutaminsäure, Asparaginsäure) *Fagus, Ulmus, Fraxinus, Larix, Picea* und *Aesculus*, das noch erhebliche Mengen Allantoinsäure enthält. Die zwei von uns zur Wurzelkultur verwendeten, bisher noch nicht auf ihre organischen Stickstoffverbindungen geprüften Blutungssäfte von *Juglans regia* und *Vitis vinifera* ordnen sich durch das eindeutige Überwiegen des Glutamins in die dritte Gruppe ein, sind also dem „Amidtyp" zuzurechnen.

Wenn, wie erwähnt, der sehr substanzarme *Vitis*-Blutungssaft bezüglich der Stickstoffverbindungen relativ weniger verdünnt ist als im Zuckergehalt, so kann das wohl darauf zurückgeführt werden, daß die Zuckerkonzentration des Blutungssaftes durch das (beim Wein niedrige) Verhältnis von mobilisierbarem Speicherzucker zu der durch den Wurzeldruck geförderten Gesamtwassermenge bestimmt wird, während der Anteil an Gesamtstickstoff mehr von der im Boden verfügbaren Menge und der Anteil des organischen Stickstoffes von der „Stickstoffassimilationsfähigkeit" der Wurzel abhängt. Sowohl nach der Intensität des

[1] Der Vitamingehalt verschiedener Blutungssäfte wird z.Z. von Prof. Dr. A. KOCH (Zoologisches Institut München) untersucht.

Wurzeldruckes als auch nach dem Ausmaß der Ionenaufnahme bzw. der synthetischen Leistung ist die *Vitis*-Wurzel daher wohl als besonders leistungsfähig anzusehen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Frühjahrsblutungssäfte von *Acer platanoides*, *A. pseudoplatanus*, *Alnus glutinosa*, *Betula pendula*, *B. pubescens*, *Carpinus betulus* und *Juglans regia* ermöglichen isolierten Wurzeln von *Zea mays* und *Robinia pseudoacacia* in steriler Dauerkultur ein erhebliches Wachstum und eine beträchtliche Substanzzunahme. Auch Wurzeln von *Acer platanoides* und *Betula pubescens* konnten im Blutungssaft der eigenen Art kultiviert werden.

2. Im Kurzversuch (24 Std.) entspricht das Wachstum von Maiswurzeln nur im *Juglans*-Blutungssaft dem in einer kompletten, harmonischen Salzlösung mit demselben Zuckergehalt. Die relative Hemmung in den anderen Säften ist nicht auf das Fehlen einer zum Wachstum notwendigen Substanz, auch nicht auf die Anwesenheit eines Hemmstoffes zurückzuführen, sondern beruht — zumindest im Birkensaft — auf einer Disharmonie in der Ionenzusammensetzung; sie kann durch Angleichen des Salzgehaltes des Blutungssaftes an den der synthetischen Lösung beseitigt werden, wobei dann der Zuwachs weit über den in einfachen Zucker-Salzlösungen feststellbaren hinaus gesteigert wird.

3. Die Blutungssäfte von *Juglans regia* und *Vitis vinifera* enthalten als mengenmäßig weit überwiegende organische Stickstoffverbindung Glutamin; sie gehören damit beide zu der Gruppe der vorwiegend Säureamid führenden Bluter.

Literatur

Kandler, O.: Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Atmungsstoffwechsel und Wachstumsvorgängen bei in vitro kultivierten Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **5b**, 203—211 (1950). — Mothes, K., u. L. Engelbrecht: Über Allantoinsäure und Allantoin. I. Ihre Rolle als Wanderform des Stickstoffs und ihre Beziehungen zum Eiweißstoffwechsel in der Pflanze. Flora (Jena) **139**, 568—616 (1952). — Paech, K., u. M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 2. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. — Priestley, J. H., and A. Wormall: On the solutes exuded by root pressure from vines. New Phytologist **24**, 24—38 (1925). — Reuter, G., u. H. Wolffgang: Vergleichende Untersuchungen über den Charakter der Stickstoffverbindungen von Baumblutungssäften der Betulaceen und anderer Holzarten. Flora (Jena) **142**, 146—155 (1954). — Schroeder, J.: Beitrag zur Kenntnis der Frühjahrsperiode des Ahorn *(Acer platanoides)*. Jb. wiss. Bot. **7**, 261—343 (1869/70). — Wolf, J.: Beobachtungen über Veränderungen des Gehaltes an organischen Säuren im Blutungssaft von Birke *(Betula alba)* und Ahorn *(Acer pseudoplatanus)*. Planta (Berl.) **28**, 721—724 (1938). — Ziegler, H.: Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate. Planta (Berl.) **47**, 447—500 (1956).

Priv.-Dozent Dr. Hubert Ziegler,
Forstbotanisches Institut, München 13, Amalienstr. 52

Planta, Bd. 48, S. 200—238 (1956)

Aus dem Meteorological Office, Poona (India),
und dem Institut für Angewandte Botanik der Technischen Universität Berlin

ÜBER DIE PHYSIKALISCHEN BEZIEHUNGEN ZWISCHEN WÄRMEÜBERGANGSZAHL, STRAHLUNGSAUSTAUSCH, TEMPERATUR UND TRANSPIRATION EINES BLATTES*,**

Von

K. RASCHKE

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juli 1956)

1. Einleitung

Durchreist man nacheinander die verschiedenen Formen tropischen Waldes, fällt einem neben anderem ins Auge, daß die vorherrschende Blattgröße vom feuchten, tropischen Regenwald über den laubabwerfenden Monsunwald zur trocken-heißen Savanne und zur Dornbuschsteppe hin immer mehr abnimmt. Mit der Verringerung der Blattgröße geht eine Aufteilung der Blattfläche einher. Ähnlich kann man im tropischen Regenwald ein Anwachsen der Blattgröße in vertikaler Richtung feststellen, wenn man vom sonnigen und trockenen obersten A-Stockwerk in das feuchte Dunkel des D-Stockwerkes hinabsteigt.

Eine Verringerung der Blattgröße bei größerer Beanspruchung des Wasserhaushaltes der Pflanzen ließe sich einfach als physiologische Wirkung des Wassermangels erklären. Für einige Pflanzen wie *Barleria prionites* und *Rungia pectinata* scheint das auch zuzutreffen; diese Pflanzen bilden während der trockenen Monate Blätter aus, die nur etwa ein Viertel der Fläche der in der Regenzeit entwickelten Blätter besitzen. Ein Gang durch einen tropischen botanischen Garten, in dem Pflanzen verschiedener Zonen unter gleichen edaphischen und klimatischen Verhältnissen wachsen, lehrt uns aber, daß in weitaus den meisten Fällen die relativen Blattgrößenunterschiede bestehenbleiben; sie beruhen demnach auf endogenen Ursachen.

* Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil durch ein Stipendium der indischen Regierung im Rahmen des Indo-German Industrial Cooporation Scheme ermöglicht.

** Nach Abschluß des Manuskriptes erschien eine Veröffentlichung von G. HOFMANN unter dem Titel „Verdunstung und Tau als Glieder des Wärmehaushaltes" [Planta **47**, 303—322 (1956)]. Sie schildert die Strahlungs-, Wind- und Feuchteabhängigkeit des Wasserdampfaustausches eines vollkommen feuchten Körpers anhand einer Näherungslösung der Wärmehaushaltsgleichung. Die in der vorliegenden Arbeit neben einem graphischen Verfahren abgeleitete rechnerische Methode zur Bestimmung von Temperatur und Transpiration eines beschränkt verdunstenden Blattes stimmt in ihrer Form mit der von HOFMANN entwickelten Verdunstungsformel überein.

Es drängt sich nun die Frage auf, ob die geringere Blattgröße der Pflanzen sonniger, heißer und trockener Habitate irgendwelche Vorteile für die Pflanzen mit sich bringt. Bei annähernd konstanter Blattzahl an der Pflanze würde eine Reduktion der Flächen der Einzelblätter auch die gesamte transpirierende Oberfläche der Pflanze und damit deren Wasserverlust verringern. Andererseits ist uns aus der Physik des Wärme- und Stoffüberganges bekannt, daß kleinere Körper günstigere Austauschverhältnisse mit dem umgebenden Medium (in diesem Falle der Luft) besitzen, relativ zu ihrer Fläche also stärker transpirieren als größere Blätter. Die Verhältnisse werden komplizierter, wenn die Blätter der Sonnenstrahlung ausgesetzt sind. Infolge des wirksameren Wärmeaustausches eines kleineren Blattes erhitzt sich dieses in der Sonne weniger stark als ein größeres. Damit ist das Dampfdruckgefälle zwischen Blatt und Luft im Falle des kleineren Blattes geringer; das kleinere Blatt sollte weniger transpirieren. So wirkt sich ein Unterschied der Austauschverhältnisse von Blättern einmal auf deren Temperatur, zum anderen in doppelter und gegenläufiger Weise auch auf deren Transpiration aus. Wenn die oben gestellte Frage, ob ein Verkleinern der Blattgröße Vorteile für die Pflanze in sich birgt, beantwortet werden soll, müssen die physikalischen Beziehungen zwischen den durch die Wärmeübergangszahl beschriebenen Austauschverhältnissen, der Temperatur und der Transpiration eines besonnten Blattes gleichzeitig untersucht werden.

Zu eben der gleichen Frage führt eine andere Überlegung. In der amerikanischen botanischen Literatur wird von verschiedenen Autoren (Curtis u. Clark 1950, Meyer u. Anderson 1952) die Ansicht vertreten, daß der Wind infolge seiner kühlenden Wirkung auf ein der Sonne ausgesetztes Blatt transpirationssenkend wirken könne. Trifft diese Annahme zu, dann müßte die Anlage von Windschutzhecken für den Wasserhaushalt der Pflanzen in sonnenscheinreichem Klima von Schaden sein. Wir wissen aber, daß der Wind nicht nur durch Erhöhen der Wärmeübergangszahl die Blattemperatur in der Sonne senkt und damit indirekt auch die Transpiration verringert, sondern auch, daß durch die verbesserten Austauschverhältnisse gleichzeitig mehr Wasserdampf fortgeführt wird. Ob die transpirationssenkende oder die transpirationsfördernde Wirkung des Windes auf ein besonntes Blatt überwiegt, kann nur durch eine physikalische Behandlung der Frage herausgefunden werden.

Schließlich ermöglicht eine mathematische Bearbeitung des Wärmehaushaltes pflanzlicher Blätter die Berechnung von Blattemperaturen unter verschiedenen Bedingungen. Auch die temperatursenkende Wirkung der Transpiration wird berechnet werden können, obwohl das noch in neuester Zeit für „praktisch unmöglich" (Curtis u. Clark 1950) gehalten wurde, weil man glaubte, die Variabilität von Strahlung, Lufttemperatur und Wind nicht erfassen zu können.

2. Das „physikalische Blatt"

Der Begriff „Blatt" soll, wenn nicht ausdrücklich anders bemerkt wird, im physikalischen Sinne gebraucht werden; er wird auf die kleinste zusammenhängende Fläche angewandt und bezeichnet so z. B. das Blättchen eines zusammengesetzten Blattes im morphologischen Sinne. Da physikalische Beziehungen der Gegenstand der Untersuchungen sind, wird weiterhin angenommen, daß die Stomata reaktionslos sind. Der Spaltöffnungszustand wird jedoch als willkürlich veränderbarer Koeffizient mit in die Gleichungen aufgenommen werden. Dies erscheint zunächst als eine gewaltsame Vereinfachung, doch birgt sie den großen Vorteil in sich, „physikalische" und „physiologische" Vorgänge scharf voneinander trennen zu können. Die Unterschiede zwischen einem beschränkt verdunstenden toten Körper und einem lebenden Blatt treten erst dann klar hervor. Sie zu bearbeiten, liegt außerhalb des Themas. Ferner soll das Blatt eben und dünn sein, so daß der Temperaturunterschied zwischen Ober- und Unterseite vernachlässigt werden kann. Für die meisten wirklichen Blätter trifft das auch zu. Auch die nächste Voraussetzung stimmt mit den Beobachtungen an lebenden Blättern überein. Sie besagt, daß der Dampfdruck der Wände der Mesophyllzellen dem Dampfdruck einer freien Wasseroberfläche von gleicher Temperatur entspricht. Wie HERTEL (1938) zeigen konnte, bleiben die Dampfdruckunterschiede zwischen einem Blatt und einer Wasseroberfläche unter 1% des theoretischen Wertes und verschwinden für das wassergesättigte Blatt. Schließlich sei die Wärmekapazität des Blattes gering, so daß es sich in vernachlässigbar kurzer Zeit auf neue Bedingungen einstellt und alle Vorgänge im stationären Zustand behandelt werden können. Die meisten wirklichen Blätter erfüllen diese Voraussetzung. So hat 1 cm^2 Fläche eines Alocasia-Blattes eine Wärmekapazität von 0,020 cal $grad^{-1}$ (Werte für andere Blätter bei SHULL 1930). Bei einer Windgeschwindigkeit von 1 m sec^{-1} beträgt die Halbwertszeit der Temperaturangleichung eines großen, trockenen Alocasia-Blattes nur 12 sec; das transpirierende Blatt reagiert noch etwas schneller.

3. Der Wärmeübergang

Zwischen einem Blatt und der an ihm vorbeiströmenden Luft setzt ein Wärmeaustausch ein, sobald ein Temperaturunterschied zwischen beiden Körpern besteht. Ist die Blattemperatur durch Empfang oder Abgabe von Strahlung oder durch Transpiration anders als die der Luft, dann bildet sich in Blattnähe ein Temperaturfeld aus. An der Blattoberfläche hat die Luft die Temperatur des Blattes angenommen. In einer gewissen Entfernung vom Blatt bleibt sie unbeeinflußt. Die dazwischenliegende Schicht des Temperaturüberganges wird seit PRANDTL als Grenzschicht (in diesem Falle als Temperaturgrenzschicht) bezeichnet.

Die Grenzschicht hat an der Anblaskante des Blattes die Dicke Null und wächst, da die Luft auf ihrem Wege über das Blatt immer mehr Wärme aufnimmt, mit größerwerdendem Überströmweg an. Bei zunehmender Windgeschwindigkeit verringert sich die Grenzschichtdicke. Im Falle laminarer Strömung läßt sich die Grenzschichtdicke δ [cm] in ihrer Abhängigkeit vom Überströmweg x [cm] und von der Windgeschwindigkeit u [cm sec^{-1}] durch die Beziehung $\delta = 3{,}4\sqrt{\frac{\nu x}{u}}$ (BLASIUS, zit. nach DÖRFFEL u. LETTAU 1936) ausdrücken, wenn ν für die kinematische Zähigkeit der Luft in cm^2 sec^{-1} steht. Um eine Vorstellung von den Abmessungen der Grenzschichtdicke am Blatt zu geben, ist in Abb. 1 ein Querschnitt durch ein Blatt mit Grenzschichten bei drei verschiedenen Windgeschwindigkeiten dargestellt. Messungen am Blatt ergaben, daß die Grenzschichten in Wirklichkeit etwas stärker sind, als die nach der Formel von BLASIUS errechneten und in Abb. 1 gezeigten Werte angeben. Sobald die laminare Strömung in Turbulenz übergeht, wächst die Grenzschichtdicke an. Sie hängt dann auch in anderer Weise von x und u ab. Einzelheiten über Grenzschicht, laminare und turbulente Strömung findet man z. B. bei LETTAU (1939) oder O. G. SUTTON (1953).

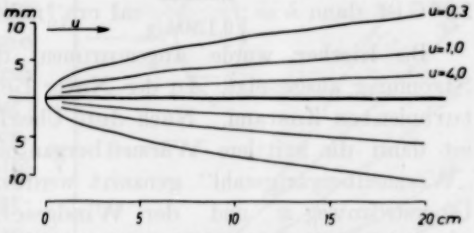

Abb. 1. Grenzschichtdicke in Abhängigkeit vom Überströmweg und der Windgeschwindigkeit bei laminarer Strömung (u in m sec^{-1})

Bei linearem Temperaturgefälle in der Grenzschicht tritt nach dem Gesetz der Wärmeleitung eine Wärmemenge $K = -\frac{\lambda}{\delta}\Theta$ durch die Einheit der Blattoberfläche. (Dabei bezeichnet λ die Wärmeleitfähigkeit der Luft in der Grenzschicht und Θ den Temperaturunterschied zwischen Blatt und ungestörter Luft.) Die Temperaturverteilung in der Grenzschicht wird aber besser durch eine kubische Parabel beschrieben. Dann ist $K = -\frac{3\lambda}{2\delta}\Theta$ (ECKERT 1949). Der Ausdruck $\frac{3\lambda}{2\delta}$ wird Wärmeübergangszahl genannt und in der vorliegenden Arbeit mit h bezeichnet. Die Wärmeübergangszahl gibt die Wärmemenge an, die bei einer Temperaturdifferenz von einem Grad zwischen Blatt und ungestörter Luft von der Flächeneinheit der Blattoberfläche in der Zeiteinheit verloren oder aufgenommen wird. h soll die Dimension cal cm^{-2} min^{-1} grad^{-1} haben. Unter Blattoberfläche sei das Doppelte der Spreitenfläche verstanden. Gemäß der Bestimmung $h = 3\lambda/2\delta$ ist die Wärmeübergangszahl der Grenzschichtdicke umgekehrt proportional (ECKERT 1949); h muß also mit wachsendem Abstand von der Anblaskante abnehmen. Ein größeres Blatt hat

daher eine geringere mittlere Wärmeübergangszahl. Da die Dicke der Grenzschicht außerdem mit zunehmender Windgeschwindigkeit schrumpft, wächst die Wärmeübergangszahl mit steigender Luftbewegung. Bei laminarer Strömung muß die Wärmeübergangszahl h_x an einem individuellen Ort der Blattoberfläche dem Ausdruck $\frac{0{,}44\,\lambda}{\sqrt{\nu x/u}}$ gleich sein. Da die mittlere Wärmeübergangszahl h einer Platte von der Breite $x = b$ den doppelten Wert der für die Leekante gültigen Wärmeübergangszahl h_b besitzt (Eckert 1949), wird die mittlere Wärmeübergangszahl dieser Platte bei Queranblasen $\frac{0{,}88\,\lambda}{\sqrt{\nu b/u}}$ betragen; für Luft von 20^0 C ist dann $h = \frac{0{,}00322}{\sqrt{0{,}150\,b/u}}$ cal cm^{-2} min^{-1} grad^{-1}.

Bis hierher wurde angenommen, das Blatt sei einer laminaren Strömung ausgesetzt. In der Natur befindet sich die Luft jedoch im turbulenten Zustand. Nach den Überlegungen O. G. Suttons (1953) ist dann die mittlere Wärmeübergangszahl (die von nun an einfach „Wärmeübergangszahl" genannt werden soll) in folgender Weise vom Überströmweg x und der Windgeschwindigkeit u abhängig: $h = \text{const}\; x^{-0{,}11} u^{0{,}78}$. Diese Formel wird durch Experimente von Dörffel u. Lettau (1936) bestätigt, nach denen die Wärmeübergangszahl dem Kehrwert der 0,127sten Potenz des Überströmweges proportional ist. Weiterhin fanden Himus, Powel u. Griffiths, Thiesenhausen und Hine (zit. nach O. G. Sutton 1953), daß sich die Wärmeübergangszahlen wie die 0,78sten Potenzen der zugehörigen Windgeschwindigkeiten verhalten.

Auch die Formel von O. G. Sutton kann noch nicht auf das Blatt angewandt werden; denn sie gilt nur exakt für einen Körper mit unendlich großer Ausdehnung quer zur Windrichtung (zweidimensionaler Wärmeübergang). Am wirklichen Blatt bilden sich Randwirbel aus, die die Abhängigkeiten etwas verändern. Walter (1926) hat die Verdun-

Tabelle 1. *Die Wärmeübergangszahl in Abhängigkeit von Blattgröße und Windgeschwindigkeit* ($h \sim x^m u^n$)

Form des Modelles	m	n	Autor
Blatt von *Vitis*, Luftruhe	$-0{,}30$	—	Walter (1926)
Blatt von *Vitis*, Wind	$-0{,}34$	—	Walter (1926)
Blatt von *Aristolochia*, Luftruhe	$-0{,}20$	—	Walter (1926)
Blatt von *Aristolochia*, Wind	$-0{,}24$	—	Walter (1926)
Rechteck, Wind	$-0{,}2$	0,5	Martin (1943)
	$\perp$ zum Wind		
	$-0{,}3$		
	$\parallel$ zum Wind		
Blatt von *Canna*, Wind	$-0{,}30$	0,5	Raschke
Quadratzylinder, Wind	$-0{,}325$	0,675	Hilpert (1933)
Rechteckplatte, Wind	—	0,7	Raschke

stung verschiedener Blattmodelle gemessen. Aus seinen Ergebnissen kann man ableiten, daß sich die Wärmeübergangszahlen geometrisch ähnlicher Blätter wie die Kehrwerte der 0,10ten bis 0,20sten Potenzen ihrer Flächen oder die Kehrwerte der 0,20sten bis 0,40sten Potenzen ihrer entsprechenden linearen Abmessungen verhalten. Zu ganz ähnlichen Resultaten kommt MARTIN (1943), nach denen $h \sim R^{-0,2}\, L^{-0,3}$ ist, wobei R die Länge der verdunstenden Oberfläche im rechten Winkel zur Windrichtung und L die Länge parallel zur Windrichtung bedeutet. Die Windabhängigkeit der Wärmeübergangszahl drückt MARTIN durch $h \sim u^{0,5}$ aus. Eigene Versuche mit Fließpapiermodellen ergaben die gleiche Beziehung; doch zeigten die Wärmeübergangszahlen dickerer Blattmodelle aus elektrisch heizbaren Kupferscheiben eine stärkere Beeinflussung durch den Wind: $h \sim u^{0,7}$. Diese Beziehung kommt der von HILPERT (1933) an Zylindern mit quadratischem Querschnitt gefundenen Abhängigkeit $h \sim u^{0,675}$ sehr nahe. In der Tabelle 1 sind die Ergebnisse einiger Bestimmungen der Überströmweg- und Windabhängigkeit der Wärmeübergangszahlen zusammengestellt. Aus dieser Zusammenfassung ergibt sich, daß die Beeinflussung der Wärmeübergangszahl durch Blattgröße und Wind in guter Näherung durch

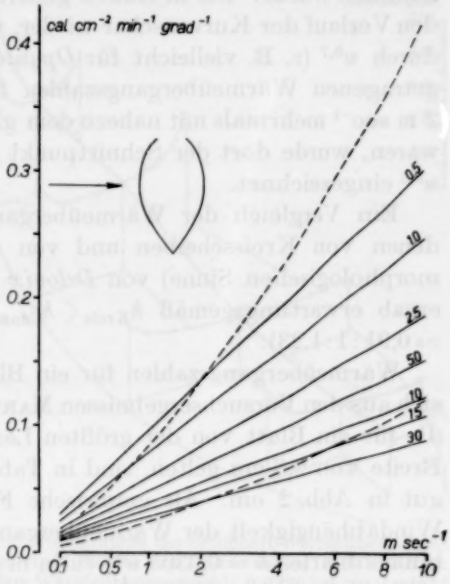

Abb. 2. Windabhängigkeit der Wärmeübergangszahlen von querangeblasenen Blättern der eingezeichneten Gestalt und einer größten Blattbreite von 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 und 30,0 cm. Gestrichelt: Grenzen der Kurvenschar für $h \sim u^{0,7}$

$$h = \text{const}\; x^{-0,3}\, u^{0,5} \qquad (1)$$

beschrieben werden kann.

Um absolute Werte von h zu erhalten, muß die Größe der Konstanten der Gleichung (1) bestimmt werden. Sie ist von der Form des Blattes abhängig und wächst mit zunehmender Zerteilung der Spreitenfläche. Für quer angeblasene *Canna*-Blätter mit einem Längen-Breiten-Verhältnis von 9:5 hat sie den Wert 0,0776; damit ist für ein *Canna*-Blatt mit der größten Breite x $h = 0,0776\; x^{-0,3}\, u^{0,5}$ cal cm^{-2} min^{-1} grad^{-1}. Strömt der Wind in Längsrichtung, dann verringert sich die Konstante auf 0,0675. Aus der Abb. 2 lassen sich die nach der angegebenen Formel berechneten Wärmeübergangszahlen von Blättern der eingezeichneten

Gestalt und verschiedener Größe in ihrer Abhängigkeit von der Windgeschwindigkeit ablesen. Sie stimmen größenordnungsmäßig gut mit den von Huber (1935) zusammengetragenen Werten für ruhende Luft überein, die sich zwischen 0,021 und 0,046 bewegen. Sie zeigen weiterhin, daß die Werte im Freiland höchstens auf etwa das 10fache, nicht aber das 100- oder gar 10000fache anwachsen, wie von Huber (1956) angenommen wurde. Die in Abb. 2 gestrichelt eingetragenen Grenzen geben den Verlauf der Kurvenschar wieder, wenn die Windabhängigkeit besser durch $u^{0,7}$ (z. B. vielleicht für *Opuntia*) dargestellt wird. Da die eingetragenen Wärmeübergangszahlen für die Windgeschwindigkeit von 2 m sec^{-1} mehrmals mit nahezu dem gleichen Ergebnis bestimmt worden waren, wurde dort der Schnittpunkt der Kurven für $u^{0,7}$ mit denen für $u^{0,5}$ eingezeichnet.

Ein Vergleich der Wärmeübergangszahlen der *Canna*-Blätter mit denen von Kreisscheiben und von doppelt gefiederten Blättern (im morphologischen Sinne) von *Delonix (Poinciana) regia* gleicher Fläche ergab erwartungsgemäß $h_{\text{Kreis}} < h_{\text{Canna}} < h_{\text{Delonix}}$ ($h_{\text{Kreis}} : h_{\text{Canna}} : h_{\text{Delonix}} = 0{,}91 : 1 : 1{,}23$).

Wärmeübergangszahlen für ein Blatt von *Helianthus annuus* lassen sich aus den Versuchsergebnissen Martins (1943) berechnen. Die Werte, die für ein Blatt von der größten Länge von 12,6 cm und der größten Breite von 9,8 cm gelten, sind in Tabelle 2 eingetragen. Sie fügen sich gut in Abb. 2 ein. Als empirische Formel ergibt sich daraus für die Windabhängigkeit der Wärmeübergangszahl des beschriebenen Sonnenblumenblattes $h = 0{,}0305\, u^{0,5}$ (u in m sec^{-1}).

Tabelle 2. *Wärmeübergangszahlen eines Blattmodelles von Helianthus annuus bei verschiedenen Windgeschwindigkeiten* (Berechnet nach Versuchsergebnissen von Martin 1943)

Wind	0,20	0,25	0,53	0,56	0,56	0,97	1,12		m sec^{-1}
h	0,016	0,015	0,022	0,023	0,020	0,030	0,030		$\frac{\text{cal}}{\text{cm}^2 \text{ min grad}}$
Wind	1,40	1,64	1,73	2,08	2,12	2,20	2,24	2,59	m sec^{-1}
h	0,033	0,042	0,037	0,043	0,046	0,048	0,048	0,051	$\frac{\text{cal}}{\text{cm}^2 \text{ min grad}}$

Schließlich bleibt noch zu untersuchen, ob Unterschiede zwischen den Wärmeübergangszahlen eines steifen und eines im Winde flatternden Blattmodelles gleicher Größe bestehen. Die in einem daraufhin angestellten Experiment aufgetretenen Differenzen waren kleiner als 2,5% der Wärmeübergangszahlen. Die Unterschiede können also vernachlässigt werden.

Die auf die angegebene Weise berechneten oder aus Abb. 2 abgelesenen Wärmeübergangszahlen stellen Mittelwerte für das Blatt dar. Die örtlichen Wärmeübergangszahlen der Blatteile können dabei von recht unterschiedlicher Größe sein. Sie sind an den Blatträndern und an der Luvseite des Blattes am höchsten. Die Abb. 3 zeigt die Topographie der örtlichen Wärmeübergangszahlen eines von der Spitze her angeblasenen *Canna*-Blattes.

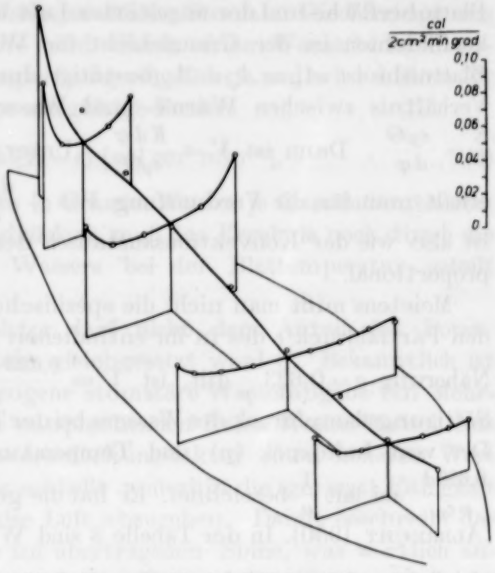

Abb. 3. Topographie der örtlichen Wärmeübergangszahlen eines Blattes von *Canna indica* (14,5 × 34 cm). Mittlere Wärmeübergangszahl: 0,0226 cal cm^{-2} min^{-1} $grad^{-1}$, Windgeschwindigkeit etwa 0,4 m sec^{-1}. (Das Längsprofil wurde 20 sec vor den Querprofilen gemessen, als die Windgeschwindigkeit etwas höher war)

Wenn die Wärmeübergangszahlen bekannt sind, kann der Wärmeübergang zwischen 1 cm^2 der Blattoberfläche und der Luft leicht nach $K = -h\,\Theta$ cal cm^{-2} min^{-1} berechnet werden. Das ganze Blatt gibt dann $K_{Bl} = -2\,F\,h\,\Theta$ cal min^{-1} (F = Spreitenfläche) an die vorbeiströmende Luft ab oder nimmt, falls Θ negativ ist, diese Wärmemenge von der Luft auf. Umgekehrt kann man die Übertemperatur eines bestrahlten, trockenen Blattes finden, wenn die aufgenommene Nettostrahlung bekannt ist. Bei einer Windgeschwindigkeit von 1 m sec^{-1} und einer Strahlungsbilanz von 0,7 cal/2 cm^2 min würde sich die Temperatur eines Blattes von 0,5 cm Breite $\frac{0{,}7}{0{,}097} = 7{,}2^0$ C über der der Luft befinden. Unter den gleichen Bedingungen hat ein Blatt von 30 cm Breite $\frac{0{,}7}{0{,}028} = 25{,}0^0$ C Übertemperatur. Erst bei einer Windgeschwindigkeit von 12 m sec^{-1} ist die Temperaturdifferenz des 30 cm-Blattes mit der Luft auf $7{,}2^0$ C reduziert.

4. Der Wasserdampfübergang

Für den Wasserdampfübergang gelten dem Wärmeübergang analoge Beziehungen. Entsprechend der Temperaturgrenzschicht bildet sich an einem verdunstenden Körper eine Feuchtgrenzschicht aus, deren Beschaffenheit die Dampfabgabe bestimmt. Um Wärme- und Wasserdampfübergang vergleichen zu können, sollen nach W. Schmidt (1925)

der Wärmefluß (in etwas abgeänderter Weise) in der Form $K = -A_\vartheta c_p \Theta$ und der Wasserdampfstrom in der Form $V = -A_\varphi d\varphi$ geschrieben werden. Darin sind c_p die spezifische Wärme der Luft bei konstantem Druck, d die Verdampfungsenthalpie des Wassers bei der Temperatur der wasserabgebenden Oberfläche, φ die Differenz der spezifischen Feuchten der Blattoberfläche und der ungestörten Luft und A_ϑ und A_φ die Austauschkoeffizienten in der Grenzschicht für Wärme und Wasserdampf. In Blattnähe ist $A_\vartheta = A_\varphi = A$ (bestätigt durch RASCHKE 1956). Für das Verhältnis zwischen Wärme- und Wasserdampfübergang ergibt sich $\frac{K}{V} = \frac{c_p \Theta}{d\varphi}$. Dann ist $V = \frac{K\, d\varphi}{c_p \Theta}$. Unter Verwendung von $K = -h\,\Theta$ erhält man für die Verdunstung $V = -\frac{dh\varphi}{c_p}$; die Wasserdampfabgabe ist also wie der Konvektionsaustausch der Wärmeübergangszahl linear proportional.

Meistens mißt man nicht die spezifische Feuchte q der Luft, sondern den Partialdruck e des in ihr enthaltenen Wasserdampfes. Da in guter Näherung $q = 0{,}623\,\frac{e}{p}$ gilt, ist $V = \frac{0{,}623\, dh\,(E-e)}{p \cdot c_p}$, wobei E für den Sättigungsdampfdruck des Wassers bei der Temperatur des Blattes steht[1]. Der von Luftdruck (p) und Temperatur etwas abhängige Quotient $\frac{0{,}623\,d}{p\,c_p}$ sei mit $\frac{1}{a}$ bezeichnet. Er hat die genaue Größe $\frac{c_p\, p}{d\; 0{,}623}\left(\frac{760}{p}\right)^{0{,}288}$ (ALBRECHT 1950). In der Tabelle 3 sind Werte von $1/a$ für verschiedene

Tabelle 3. *Druck- und Temperaturabhängigkeit des Koeffizienten* $1/a$

°C	760 (0)	750 (100)	730 (320)	710 (520)	700 (660)	600 (1900)	500 (3300)	Torr (m)
0	2,03	2,05	2,10	2,14	2,15	2,39	2,74	
10	2,02	2,04	2,08	2,12	2,14	2,38	2,72	
20	2,00	2,02	2,06	2,10	2,12	2,36	2,70	
30	1,98	2,00	2,04	2,08	2,10	2,33	2,67	
40	1,96	1,98	2,01	2,06	2,08	2,30	2,64	
50	1,94	1,96	2,00	2,04	2,06	2,28	2,61	

[1] Diese Formel stimmt grundsätzlich mit der Ausgangsformel HOFMANNS (1956, S. 306) überein. Jedoch multipliziert HOFMANN (1955, S. 9) den Wert 0,623 noch mit dem Faktor $\left(\frac{D}{a}\right)^{\frac{2}{3}}$, um das Verhältnis des Diffusionskoeffizienten D von Wasserdampf gegen Luft und der Temperaturleitzahl a in der laminaren Grenzschicht zu berücksichtigen und erhält so die Verdunstungsformel $V = -\frac{0{,}690\, dh\,(E-e)}{p \cdot c_p}$ (in der Schreibweise der vorliegenden Arbeit). Da der Faktor $\left(\frac{D}{a}\right)^{\frac{2}{3}}$ nicht sehr vom Wert 1 abweicht (seine Größe ist bisher nur theoretisch hergeleitet worden), wurde er in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt, besonders nachdem die Unterschiede zwischen Verdunstungsmessungen und -berechnungen innerhalb des zu erwartenden Schwankungsbereiches lagen.

Temperaturen und Luftdrücke (die in einer Normalatmosphäre den angegebenen Höhen über dem Meeresspiegel entsprechen) zusammengestellt.

Die hier abgeleitete Verdunstungsformel gilt für eine freie Wasserfläche oder ein nasses Filterpapier. Die wasserabgebende Oberfläche eines Blattes ist durch die Cuticula stark reduziert und verändert sich mit derem Zustand und der Öffnungsweite der Stomata. Die Verringerung der verdunstenden Oberfläche wird durch einen Wasserbedeckungsfaktor[1] α in die Verdunstungsgleichung eingeführt, und wir erhalten für den Wasserdampfübergang die endgültige Formel

$$V = -\frac{\alpha}{a} h\,(E - e)\ [\text{cal cm}^2\ \text{min}^{-1}]. \qquad (2)$$

Um die Verdunstungswerte in Gramm Wasser je Quadratzentimeter Oberfläche und Minute auszudrücken, muß das Ergebnis noch durch die Verdampfungsenthalpie des Wassers bei der Blattemperatur geteilt werden.

Der Wasserbedeckungsfaktor darf nicht dem Anteil des Porenareals an der Gesamtblattfläche gleichgesetzt werden. Bekanntlich ist die auf das Stomataareal bezogene stomatäre Wasserabgabe ein Mehrfaches der Verdunstung einer entsprechenden freien Wasserfläche. Aus diesem Grunde hat der Wasserbedeckungsfaktor einen höheren Wert als das relative Porenareal; er schließt weiterhin die (geringe) Fähigkeit der Cuticula ein, Wasser an die Luft abzugeben. Damit beschreibt der Wasserbedeckungsfaktor nur im übertragenen Sinne, was wörtlich angegeben wird. Der Ausdruck „relative Permeabilität" wäre vielleicht passender.

Über den Wasserbedeckungsfaktor wird der Einfluß der Pflanze auf die Transpiration in die Berechnungen aufgenommen. Da seine Größe willkürlich eingesetzt wird und noch sehr wenig über sie bekannt ist, sollen einige Zahlenwerte angeführt werden. Im Savannenklima wurden an *Canna indica* und *Alocasia indica* folgende Tagesgänge gemessen. Sie spiegeln den Öffnungszustand der Stomata und den Wassergehalt der Cuticula wider.

Canna indica

Zeit	6,00	6,50	8,00	9,00	10,00	11,00	12,00	13,00
α	0,022	0,025	0,45	0,049	0,013	0,026	0,031	0,025
Zeit	14,00	15,30	16,30	17,30	18,30	21,20		
α	0,031	0,020	0.029	0,004	0,007	0,010		

Alocasia indica

Zeit	9,03	11,08	12,11	14,08	15,08	17,10
α	0,25	0,031	0,021	0,027	0,021	0,008

[1] Die Einführung des Wasserbedeckungsfaktors entspricht der von HOFMANN (1956, S. 313) vorgeschlagenen Verringerung des Faktors 0,690 zur Berücksichtigung des zusätzlichen Diffusionswiderstandes der Spaltöffnungen.

Größere Werte kann man aus den in ruhender Luft erhaltenen Versuchsergebnissen von MARTIN (1943) errechnen:

	Helianthus annuus					
Lufttemperatur [°C] . . .	27	27	38	38	49	49
Relative Feuchte [%] . . .	20	50	20	50	20	50
α	0,317	0,308	0,274	0,279	0,307	0,540

Diese Werte müssen wahrscheinlich als hoch angesehen werden; denn eigene Messungen an je zwei jungen Blättern von drei verschiedenen Bäumen ergaben selbst in der gemäßigten Zone niedrigere Zahlen:

Fagus silvatica	0,075	*Acer pseudoplatanus*	0,032	*Tilia platyphyllos*	0,014
„	0,103	„	0,043	„	0,032

Nach diesen wenigen bisher vorliegenden Werten scheint der Wasserbedeckungsfaktor zwischen 0,004 (cuticuläre Transpiration) und vielleicht 0,6 (vollgeöffnete Stomata, vgl. *Canna* 8,00 *h*, *Alocasia* 9,03 *h*) schwanken zu können. Dabei ist α wieder ein Durchschnittswert für die ganze Blattoberfläche. Bei hypostomatischen Blättern wird ein großer Unterschied zwischen den Wasserbedeckungsfaktoren von Ober- und Unterseite der Blätter bestehen.

Es bleibt noch kurz zu untersuchen, inwieweit die Ergebnisse bisher durchgeführter Transpirationsmessungen die angegebene Verdunstungsformel bekräftigen.

Die Transpiration eines Blattes wird in der vorliegenden Arbeit wie die Verdunstung einer vermindert wasserabgebenden Oberfläche behandelt. In Wirklichkeit ist die Transpiration im wesentlichen aber eine Wasserabgabe durch ein perforiertes Septum. Es muß daher mit unterschiedlichem Verhalten, besonders im Winde, gerechnet werden. Vergleicht man gleichzeitig gemessene Transpirations- und Evaporationskurven, so stellt sich heraus, daß sich einige Pflanzen wie z. B. die Banane (MORELLO zit. nach STOCKER 1956) und *Juncus maritimus* (STOCKER 1956) bei reichlicher Wasserversorgung „wie ein formgleiches Evaporimeter mit einem zusätzlichen Diffusionswiderstand" (STOCKER 1956) verhalten, was für die Anwendbarkeit des in der vorliegenden Arbeit benutzten vereinfachten Blattmodelles spricht. Die Transpiration müßte dann auch der Wärmeübergangszahl folgen und (bei fehlender Einstrahlung) mit der Quadratwurzel der Windgeschwindigkeit anwachsen. Die Versuchsergebnisse von MARTIN u. CLEMENTS (1935) zeigen, daß die Transpirationsrate von *Helianthus annuus* tatsächlich innerhalb kurzer Zeitabschnitte der Quadratwurzel der Windgeschwindigkeit proportional ist. Für Zeiträume von mehreren Stunden verringert sich der Exponent allerdings auf 0,2. Übereinstimmend fand WRENGER (1935), ebenfalls an *Helianthus annuus*, eine Abhängigkeit der Transpirationsrate von der 0,4ten Potenz der Windgeschwindigkeit innerhalb von 15min-

Abschnitten. Die Transpiration von *Tropaeolum majus* und *Solanum melongea* folgte der 0,5ten Potenz. Andererseits berichten WRENGER (1935), STOCKER (1932/33) u. a. von Pflanzen, deren Transpiration durch den Wind wenig oder gar nicht beeinflußt wird. Es ist anzunehmen, daß diese Gruppe von Pflanzen sehr schnell durch Verringern des Wasserbedeckungsfaktors reagiert. MARTIN (1943) berichtet z. B., daß *Helianthus annuus* unter den Bedingungen höherer Temperatur und geringerer Luftfeuchte bereits in weniger als 3 min nach Einsetzen einer Windgeschwindigkeit von 2,5 m sec^{-1} den Spaltenapparat schloß. Die aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß die Transpiration bei unveränderter Stomataweite der Quadratwurzel der Windgeschwindigkeit proportional ist. Die Pflanze ist jedoch in der Lage, bei wachsender Luftbewegung innerhalb kurzer Frist mit einer Verringerung des Wasserbedeckungsfaktors zu reagieren (vgl. STÅLFELT 1956).

Bei konstanter Windgeschwindigkeit und unveränderter Stomataweite müßte die Transpiration weiterhin der Dampfdruckdifferenz zwischen Blatt und Luft verhältnisgleich sein. Nach den Untersuchungen von DARVIN, HENDERSON, BIALOGLOWSKI und THUT (zit. nach MARTIN 1943) trifft das mit Ausnahme geringer Luftfeuchten zu. Die cuticuläre Transpiration folgt jedoch nach GÄUMANN u. JAAG (1936) einer Potenz von 0,28—0,71 des „physiologischen Sättigungsdefizits" (= Dampfdruckdifferenz zwischen Blatt und Luft). Diese Ausnahmen sprechen nicht gegen die Anwendung einer linearen Beziehung zwischen Transpiration und Dampfdruckdifferenz. Sie besagen vielmehr, daß das Blatt bei stärkerer Transpirationsbeanspruchung mit einer Erniedrigung des Wasserbedeckungsfaktors antwortet.

Die physiologischen Reaktionen der Pflanze, die die Transpiration beeinflussen, sind gegenwärtig noch nicht in mathematischer Form ausdrückbar. Es sollen daher im Folgenden konstante Wasserbedeckungsfaktoren in die Verdunstungsformel eingesetzt werden. Ergibt eine Transpirationsmessung an einem wirklichen Blatt andere Werte als die theoretische Berechnung, dann hat sich die Pflanze während des Versuches in irgendeiner Weise auf die neuen Bedingungen eingestellt. Die sich in einer Veränderung des Wasserbedeckungsfaktors äußernde Regulierung läßt sich, wie noch in einem Beispiel gezeigt werden wird, aus den Versuchsergebnissen finden und zahlenmäßig ausdrücken.

5. Der Strahlungsaustausch

a) Sichtbare Strahlung. Die von einem Blatt absorbierte direkte Sonnenstrahlung J_{Bl} kann nach $J_{Bl} = J\,\varepsilon \sin\beta$ berechnet werden, wenn J die auf eine zur Strahlungsrichtung senkrechte Fläche auftreffende Sonnenstrahlung bezeichnet, β den Winkel des Blattes mit der einfallenden Strahlung angibt und ε der Absorptionskoeffizient ist. Für das Blatt

ist $\varepsilon = 1 - \varrho - \delta$, wenn ϱ das Reflexionsvermögen und δ die Lichtdurchlässigkeit des Blattes bezeichnen. Nach der Zusammenfassung bei GEIGER (1950) schwankt ϱ zwischen 0,08 und 0,20, δ zwischen 0,05 und 0,20. RASCHKE (1956) hat an *Alocasia*-Blättern folgende Extremwerte gemessen: ϱ:0,18 und 0,27, δ:0,04 und 0,29. Damit bewegt sich ε in einem Bereich von 0,44—0,88.

Zur Erleichterung von Überschlagsrechnungen sollen folgende Angaben über die zur Mittagsstunde in Potsdam zur jeweiligen Monatsmitte von einer zur Strahlung senkrechten Fläche empfangene Sonnenstrahlung gemacht werden (aus GEIGER 1950):

Januar	Februar	März	April	Mai	Juni
1,014	1,120	1,121	1,175	1,278	1,274 cal cm^{-2} min^{-1}
Juli	**August**	**September**	**Oktober**	**November**	**Dezember**
1,196	1,169	1,220	1,167	0,987	0,967 cal cm^{-2} min^{-1}

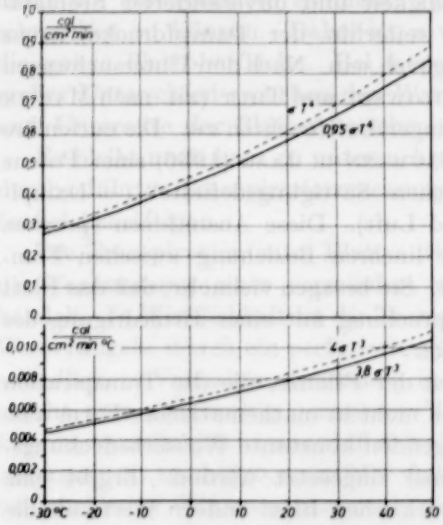

Abb. 4. Oben: Wärmestrahlung eines schwarzen Körpers (gestrichelt) und eines Blattes (ausgezogen). Unten: Strahlungsübergangszahlen eines schwarzen Körpers (gestrichelt) und eines Blattes (ausgezogen)

In Indien werden in der klaren Jahreszeit (Winter) knapp 1,5, im April und Mai etwa 1,2 cal cm^{-2} min^{-1} gemessen.

Neben der direkten Sonnenstrahlung empfängt ein Blatt noch sichtbare Strahlung vom Himmel (diffuse Himmelsstrahlung $= D$) und vom Boden reflektierte Sonnen- und Himmelsstrahlung (R). D kann man bei klarem Himmel nach der Formel $D = \frac{J}{13{,}5 \sin \beta}$ (nach den LANDOLT-BÖRNSTEINschen Tafeln) — J ist von normaler Fläche empfangene Sonnenstrahlung, β ist Sonnenhöhe — berechnen. In Indien folgt D während der klaren Jahreszeit besser der Beziehung $D = \frac{J}{8{,}42 \sin \beta}$ (Durchschnitt von 90 Messungen). Bei ganz oder teilweise bedecktem Himmel wird D von der Art und der Verteilung der Bewölkung bestimmt. Die vom Boden reflektierte Strahlung hängt von der Reflexionszahl ϱ_B des Bodens ab. Nach GEIGER (1950) kann ϱ_B Werte zwischen 0,06 und 0,37 annehmen.

Ein Quadratzentimeter der Spreite eines waagerecht exponierten Blattes empfängt somit bei klarem Himmel insgesamt an sichtbarer Strahlung

$$J_\Sigma = J_{Bl} + \varepsilon (D + R) \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}.$$

Auf 1 cm² der Blattoberfläche bezogen wird nur die Hälfte der angegebenen Strahlung aufgenommen.

b) Langwellige Strahlung. Ein Blatt sendet, wie jeder andere Körper auch, eine seiner absoluten Temperatur T_{Bl} entsprechende Wärmestrahlung aus: $L = \varepsilon_l \sigma T_{Bl}^4$ (STEFAN-BOLTZMANNsches Gesetz). Das Maximum dieser Infrarotstrahlung liegt für die vorkommenden Blatttemperaturen zwischen den Wellenlängen 8,9 und 10,5 μ. Die Konstante σ hat den Wert $8{,}26 \cdot 10^{-11}$, wenn L in cal cm^{-2} min^{-1} erhalten werden soll. Der Absorptionskoeffizient ε_l für langwellige Strahlung beträgt etwa 0,95; ein Blatt verhält sich also annähernd wie ein „schwarzer Körper" (FALCKENBERG 1928, RASCHKE 1956). Im oberen Teil der Abb. 4 ist die von einem Quadratzentimeter eines schwarzen Körpers und eines Blattes in Abhängigkeit von der Temperatur ausgesandte Wärmestrahlung eingezeichnet.

Atmosphäre und Boden strahlen ihrerseit dem Blatte Wärme zu. Die vom Boden ausgehende Gegenstrahlung läßt sich ungefähr mit $G_B = 0{,}95\,\sigma\,T_B^4$ ansetzen, wenn T_B die Temperatur der Bodenoberfläche ist. Nach der bei GEIGER (1950) angegebenen Formel von BAUR u. PHILIPPS ist auch die Gegenstrahlung der Atmosphäre bei klarem Himmel berechenbar: $G_A = \sigma\,T_L^4\,(0{,}594 + 0{,}048\,\sqrt{e})$, wobei T_L die in 2 m Höhe gemessene Lufttemperatur und e den Wasserdampfdruck der Luft in Torr bedeuten.

Als Nettowert des langwelligen Strahlungsaustausches eines Quadratzentimeters der Blattfläche (von 2 cm² Oberfläche) ergibt sich

$$L_{\sim} = 0{,}95\,(G_B + G_A) - 2\,L$$

$$= 0{,}95\,\sigma\left[\,0{,}95\,T_B^4 + (0{,}594 + 0{,}48\,\sqrt{e})\;T_L^4 - 2\,T_{Bl}^4\right] \frac{\text{cal}}{2\,\text{cm}^2\,\text{min}}$$

Ist das Blatt auf Lufttemperatur, vereinfacht sich die Formel auf

$$L_{\sim L} = 0{,}95\,\sigma\,[\,0{,}95\,T_B^4 + (0{,}048\,\sqrt{e} - 1{,}406)\;T_L^4].$$

Bei gleichbleibender Lufttemperatur werde die Blattemperatur um den Betrag Θ verändert. Dann ist

$$L_{\sim} = L_{\sim L} - 1{,}9\,\sigma\,[\,(T_L + \Theta)^4 - T_L^4].$$

Nach Verwandelung des Ausdruckes $0{,}95\,\sigma\,[(T_L + \Theta)^4 - T_L^4]$ in eine Reihe, die nach dem linearen Glied abgebrochen werden soll, kann man in erster Näherung schreiben: $L_{\sim L} = L_{\sim} - 2(3{,}8\,\sigma\,T_L^3\,\Theta)$. Der Ausdruck $3{,}8\,\sigma\,T_L^3$ soll Strahlungsübergangszahl genannt und durch h_s bezeichnet werden. Der Nettoaustausch an langwelliger Strahlung durch ein Blatt ist dann bei nicht zu großen Temperaturunterschieden durch

$$L_{\sim} = L_{\sim L} - 2\,\Theta\,h_s$$

beschreibbar. Im unteren Teil der Abb. 4 sind Strahlungsübergangszahlen für schwarze Körper und Blätter in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur dargestellt. Weiterhin kann der Temperaturbereich abgelesen

werden, innerhalb dessen der Strahlungsübergang bei gewünschter Genauigkeit als dem linearen Ansatz folgend betrachtet werden darf.

c) Strahlungsbilanz. Die einem bestrahlten Blatt nach Abzug der langwelligen Strahlungsverluste verbleibende Strahlung wird Strahlungsbilanz genannt:

$$S = J_{\Sigma} + L_{\Sigma}$$
$$= J_{Bl} + \varepsilon\,(D + R) + \varepsilon_l\,(G_B + G_A) - 2\,\varepsilon_l\,\sigma\,T_{Bl}^4.$$

Ihre Dimension ist cal je cm² Blattspreite und Minute oder cal je 2 cm² Blattoberfläche und Minute. Sie kann durch kleine Strahlungsbilanzmesser, die ober- und unterhalb des Blattes exponiert sind, direkt gemessen werden. Eine andere Möglichkeit ihrer Bestimmung besteht in der Messung der einkommenden sichtbaren und langwelligen Strahlungsströme (nach den einschlägigen meteorologischen Methoden) und der Blattemperatur. Mit Hilfe der in den vorangegangenen 2 Abschnitten geschilderten Beziehungen läßt sich daraus die Strahlungsbilanz ermitteln. Schließlich ist für einfache Verhältnisse auch eine Überschlagsrechnung möglich. Sie sei an zwei Beispielen vorgeführt. Von einem waagerechten *Alocasia*blatt sind die Reflexionszahl $\varrho = 0{,}21$ und die Durchlässigkeitszahl $\delta = 0{,}10$ bekannt. Die Sonnenhöhe sei $\beta = 75^0$; die Intensität der Sonnenstrahlung betrage 1,20 cal cm^{-2} min^{-1}. Die einem cm² der Blattspreite (= 2 cm² Oberfläche) verbleibende Strahlung beläuft sich auf:

J_{Bl}	= 0,80 cal/2 cm² min
D (für Poona)	= 0,15 cal/2 cm² min
R (mit $\varrho_B = 0{,}16$)	= 0,15 cal/2 cm² min
G_B (bei einer Oberflächentemperatur des Bodens von 65° C)	= 0,98 cal/2 cm² min
G_A (bei 39° C Lufttemperatur und 27,5 Torr Dampfdruck)	= 0,63 cal/2 cm² min
2 L (bei 46° C Blattemperatur)	= − 1,61 cal/2 cm² min
	S = 1,10 cal/2 cm² min
Mit dem Strahlungsumsatzmesser wurde gemessen:	S = 1,03 cal/2 cm² min

Die eben angestellte Bilanzrechnung veranschaulicht gleichzeitig den hohen Anteil der Infrarotstrahlung am Strahlungshaushalt eines Blattes. Der nächtliche Strahlungshaushalt wird ganz von der langwelligen Strahlung getragen. Wiederum soll die Überschlagsrechnung mit der Messung verglichen werden.

G_B (bei einer Oberflächentemperatur des Bodens von 35° C)	= 0,67 cal/2 cm² min
G_A (bei 37,8° C Lufttemperatur und 8,2 Torr Dampfdruck)	= 0,54 cal/2 cm² min
2 L (bei 34° C Blattemperatur)	= − 1,39 cal/2 cm² min
	S = − 0,18 cal/2 cm² min
Gemessen wurde	S = − 0,17 cal/2 cm² min.

Die Strahlungsbilanz eines Blattes, das die Temperatur T_L der umgebenden Luft hat, soll mit S_L bezeichnet werden. Unterscheidet sich die Blattemperatur von der der Luft um Θ^0C, dann nimmt der Strahlungsumsatz den Wert $S = S_L - 2\,\Theta\,h_s$ an.

6. Die Wärmehaushaltsgleichung

Infolge der geringen Wärmekapazität eines normalen pflanzlichen Blattes können dessen Energieeinnahmen und -ausgaben zu jedem Zeitpunkt als einander die Waage haltend betrachtet werden:

$$S + K + V = 0.$$

Der Anteil der durch Photosynthese, Atmung und Leitung durch den Blattstiel umgesetzten Wärmemengen beträgt unter natürlichen Bedingungen meist weniger als 1% des gesamten Energieaustausches; er kann daher vernachlässigt werden. Die verbleibenden Komponenten nehmen je nach den äußeren Bedingungen positives oder negatives Vorzeichen an. So ist die Strahlungsbilanz nachts negativ, bis nach Sonnenaufgang die absorbierte sichtbare Strahlung größer als der infrarote Strahlungsverlust wird. Bereits vor Sonnenuntergang wird S wieder negativ. Der Konvektionsumsatz K hat negatives Vorzeichen, wenn die Blattemperatur über der der Luft liegt (Θ ist positiv); bei Untertemperatur des Blattes (Θ ist negativ) wird Wärme aus der Luft aufgenommen. Die Transpiration V trägt nur dann ein positives Vorzeichen, wenn latente Wärme bei der Kondensation von Tau und Reif am Blatt frei wird. (Unter natürlichen Bedingungen an einem *Alocasia*blatt gemessene Tagesläufe des Wärmehaushaltes und seiner Komponenten sind von Raschke (1956) beschrieben worden.)

7. Die Berechnung der Blattemperatur

a) Allgemeines. Um die Wechselwirkungen zwischen Blattemperatur, Strahlungsaustausch und dem durch Wind und Blattgröße beeinflußten Wärme- und Wasserdampfübergang gleichzeitig erfassen zu können, gehen wir von der Wärmehaushaltsgleichung aus. Für den Energieumsatz eines einen Quadratzentimeter großen Ausschnittes aus der Blattspreite (mit 2 cm² Oberfläche) kann nach dem Vorausgegangenen in ausführlicher Form geschrieben werden:

$$S - 2\,h\,\Theta - 2\,h\,\frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl} - e) = 0,$$

wobei E_{Bl} der Sättigungsdampfdruck bei der Temperatur des Blattes ist. In dieser Gleichung ist S über den infraroten Strahlungsverlust von der Blattemperatur abhängig. Um diese Abhängigkeit in der Gleichung auszudrücken, schreiben wir näherungsweise

$$S_L - 2\,\Theta\,(h + h_s) - 2\,h\,\frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl} - e) = 0.$$

Die Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft beträgt dann

$$\Theta = \frac{S_L}{2\,(h+h_s)} - \frac{h}{(h+h_s)}\,\frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e)\,. \qquad (3)$$

Diese Beziehung drückt aus, daß sich der Temperaturunterschied eines Blattes mit der Luft aus einem Strahlungsglied und einem Verdunstungsglied (der „Transpirationskühlung") zusammensetzt. Das Strahlungsglied ist der Wärmeübergangszahl umgekehrt proportional. Dagegen hängt die Temperaturerniedrigung durch Verdunstung nur wenig von Windgeschwindigkeit und Blattgröße ab, d. h. die Blatttemperatur wird nur dann im wechselnden Winde heftig schwanken, wenn eine unausgeglichene Strahlungsbilanz herrscht. Ist h_s sehr viel kleiner als h und damit $\frac{h}{h+h_s} \approx 1$, dann kann man die Transpirationskühlung in erster Näherung als unabhängig von der Wärmeübergangszahl annehmen. Davon macht man bei der Messung der Luftfeuchte mit dem Psychrometer Gebrauch. Bei diesem Instrument ist $S \approx 0$; der Rest der Gleichung stellt nichts anderes als die bekannte Psychrometerformel dar. Im Falle eines trockenen Körpers ist α gleich Null, das Verdunstungsglied verschwindet, und die Übertemperatur des vollkommen trockenen Blattes läßt sich leicht aus dem Strahlungsglied berechnen. Umgekehrt kann man die Wärmeübergangszahl eines trockenen Blattes (Blattmodell) finden, wenn man dessen Strahlungsbilanz S' und Temperaturdifferenz Θ' mit der Luft mißt. Auf Grund von $S' = K' = 2\,\Theta' h$ ist $h = \frac{S'}{2\,\Theta'}$. Hatte ein wirkliches Blatt von gleichen Abmessungen unter den gleichen Bedingungen die Strahlungsbilanz S und die Übertemperatur Θ, dann gilt für dieses $\Theta = \frac{S}{2h} - \frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e)$. Die der Transpiration zuzuschreibende Temperatursenkung ist demzufolge $\Theta_{trp} = \frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e) = \frac{S}{2h} - \Theta$. Dafür ein Beispiel: An einem *Canna*-Blatt wurden gemessen: $S = 0{,}9$ cal/2 cm² min, $\Theta = 7{,}0^0$ C, $h = 0{,}04$ cal/cm² min grad. Die Temperaturerniedrigung durch Transpiration beträgt in diesem Falle $\Theta_{trp} = 11{,}2 - 7{,}0 = 4{,}2^0$ C. Gleichzeitig betrug die Lufttemperatur 33^0 C und es herrschte ein Wasserdampfdruck von 7,0 mm. Da $\Theta_{trp} = \frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e)$ ist, kann man daraus den Wasserbedeckungsfaktor berechnen. Bei einer Blattemperatur von 40^0 C beträgt der Sättigungsdampfdruck des Wassers 55,3 mm. Mit $\frac{1}{a} = 2$ folgt, daß $\alpha = \frac{a\,\Theta_{trp}}{E_{Bl}-e} = \frac{4{,}2}{2\,(55{,}3-7{,}0)} = 0{,}0435$ ist. Weiter ist es möglich, aus der Blattemperatur und damit aus der Transpirationskühlung die Größe der Transpiration abzuleiten. Nach Abschnitt 4 ist $V = -2\,h\,\frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e)$ cal/2cm² min. Da für $\frac{\alpha}{a}\,(E_{Bl}-e)$ auch Θ_{trp} geschrieben werden kann, ist $V = -2\,h\,\Theta_{trp}$, im erwähnten

Beispiel also $-0{,}08 \cdot 4{,}2 = -0{,}336$ cal/2 cm² min oder 0,58 mg Wasser je cm² Blattspreite in der Minute (vgl. RASCHKE 1954). Schließlich gibt die Beziehung $V = -2\,h\,\Theta_{trp}$ noch an, daß die Senkung der Blatttemperatur durch die Transpiration bei konstanter Wärmeübergangszahl der Transpirationsgröße proportional ist. Demnach kann man die Blatttemperatur auch mit der Waage messen. Ein Blattmodell aus wassergetränktem Fließpapier hat, wenn es nicht zu groß ist, bei ausgeglichener Strahlungsbilanz ($S = 0$) die Temperatur des feuchten Thermometers eines Psychrometers; seine Temperaturdifferenz Θ'' mit der Luft ist der psychrometrischen Differenz gleich. Werden die Wasserverluste des Blattes und seines Modells mit V und V'' bezeichnet, ist $\Theta = \Theta'' \frac{V}{V''}$. Bei unausgeglichener Strahlungsbilanz ($S \neq 0$) wird daraus $\Theta = \Theta'' \left(\frac{S-V}{S''-V''}\right)$ mit $\Theta'' = \frac{S''-V''}{2\,h}$ oder, falls das Blatt und sein Modell gleiche Absorptionszahlen für sichtbare und langwellige Strahlung besitzen, $\Theta = \Theta'' \left(\frac{S_L-V}{S_L-V''}\right)$ mit $\Theta'' = \frac{S_L-V''}{2\,(h+h_s)}$; h muß dann also bekannt sein.

Die Berechnung der Blattemperatur wird etwas schwieriger, wenn nur Strahlungsbilanz S, Wärmeübergangszahl h, Wasserbedeckungsfaktor α, Lufttemperatur T_L und Luftfeuchte e als Ausgangsgrößen zur Verfügung stehen. Der Sättigungsdampfdruck E_T des Wassers ist nach der Formel von MAGNUS mit den Konstanten von TETENS (zit. nach KLEINSCHMIDT 1935) in folgender Weise von der Temperatur T (in ° C) abhängig: $\log E_T = \frac{7{,}5\,T}{T+237{,}3} + 0{,}6609$ (kurz mit $E_T = f(T)$ bezeichnet). Aus Gleichung (3) wird dann:

$$\Theta = \frac{S_L}{2\,(h+h_s)} - \frac{a}{a} \frac{h}{(h+h_s)} \left(f(T_{Bl}) - e\right).$$

Da Θ einmal linear vorkommt und ein zweites Mal in einem Exponenten steht, läßt sich die Gleichung numerisch nicht exakt lösen. Es ist aber möglich, eine graphische Lösung und eine rechnerische Näherungslösung anzugeben.

b) Graphische Lösung. Zunächst sei die graphische Lösung für Blätter geschildert, deren Strahlungsbilanz gemessen wurde. Die Wärmehaushaltsgleichung eines Blattes heißt

$$0 = S - 2\,h\,(T_{Bl} - T_L) - 2\,h\,\frac{\alpha}{a}\,(f(T_{Bl}) - e),$$

und die Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft beträgt

$$T_{Bl} - T_L = \frac{S}{2\,h} - \frac{\alpha}{a}\,(f(T_{Bl}) - e).$$

Nach Umordnung der Gleichung erhält man

$$\underbrace{-T_{Bl} + T_L + \frac{S}{2\,h} + \frac{\alpha}{a}\,e}_{y_1} = \underbrace{\frac{\alpha}{a}\,f(T_{Bl})}_{y_2}.$$

Die linke Seite der Gleichung stellt eine Gerade dar:

$$y_1 = -T_{Bl} + T_L + \frac{S}{2h} + \frac{\alpha}{a} e = -T_{Bl} + b .$$

Da der Beiwert der Veränderlichen T_{Bl} gleich -1 ist, fällt die Gerade im Koordinatensystem unter einen Winkel von 45° ab. Sie schneidet die y-Achse an dem Punkte $T_{Bl} = 0$ und $y = b = T_L + \frac{S}{2h} + \frac{\alpha}{a} e$. Damit ist die Gerade eindeutig definiert. Auf der rechten Seite der Gleichung steht die Funktion $y_2 = \alpha f(T_{Bl})/a$. Sie stellt die mit dem Koeffizienten α/a versehene Dampfdruckfunktion des Wassers dar und kann für alle Blattemperaturen und Koeffizienten gezeichnet werden. Da $y_1 = y_2$ sein muß, gibt die Abszisse des Schnittpunktes der Geraden mit der Kurve der mit dem entsprechenden Koeffizienten versehenen Dampfdruckfunktion die gesuchte Blattemperatur. In der Abb. 5 ist eine Kurvenschar von $E_T = \alpha f(T_{Bl})/a$ für verschiedene Wasserbedeckungsfaktoren eingezeichnet. Da $1/a$ mit 2 angesetzt wurde, bildet die mit $\alpha = 1$ bezeichnete Kurve die Funktion $y_2 = 2 f(T)$ ab; diese Kurve kann also auch zum Ablesen des Sättigungsdampfdruckes des Wassers in Abhängigkeit von der Temperatur benutzt werden, wenn man die zugehörigen Ordinaten halbiert. Zur Erleichterung ist dafür am linken Rande der Tafel ein in Torr eingeteilter Maßstab hinzugefügt worden. Weiterhin wird die Abb. 5 mit unter einem Winkel von 45° fallende Geraden durchzogen, die die Funktionen $y_1 = -T_{Bl} + b$ darstellen.

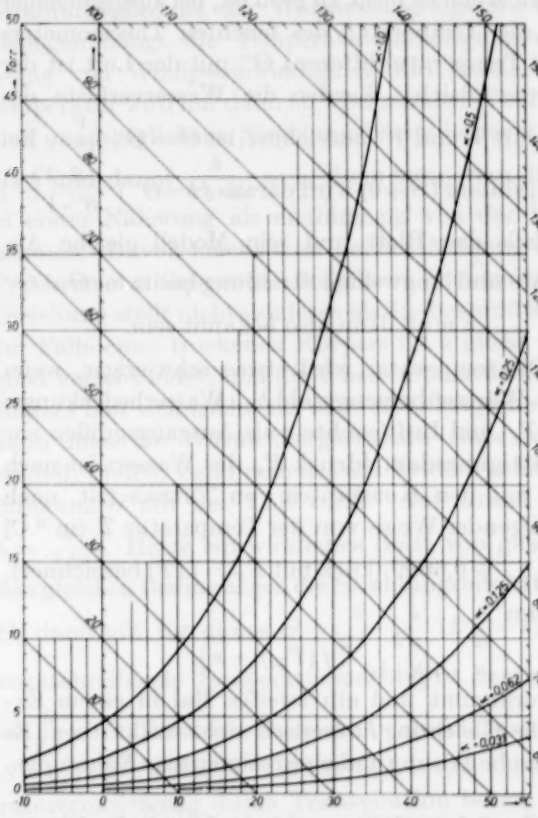

Abb. 5. Rechentafel zur Bestimmung der Blattemperatur für $0 \geq \alpha \geq 1{,}0$ (Gebrauchsanweisung im Text)

Der Gebrauch der Rechentafel sei an 2 Beispielen erläutert. Im ersten Falle sei $S = 0{,}7$ cal/2 cm² min, $h = 0{,}035$ cal/cm² min grad,

$T_L = 15^0$ C, $e = 10$ Torr und $\alpha = 0{,}25$. Dann ist $b = 15 + 10 + 5 = 30$. Die Gerade $y_1 = 30 - T_{Bl}$ schneidet die Kurve $y_2 = \frac{0{,}25}{a} f(T_{Bl})$ bei $T_{Bl} = 20{,}8^0$ C. Damit ist die Blattemperatur gefunden; sie liegt $5{,}8^0$ C über der Lufttemperatur. Unter gleichen Bedingungen hätte ein vollkommen trockenes Blatt eine Übertemperatur von $\Theta' = \frac{S}{2h} = 10^0$ C gezeigt. Die der Transpiration zuzuschreibende Kühlung beträgt in diesem Falle demnach $4{,}2^0$ C.

Das zweite Beispiel soll nächtliche Verhältnisse schildern mit $S = -0{,}14$ cal/2 cm² min, $\alpha = 0{,}02$, andere Werte wie eben gegeben. Zur

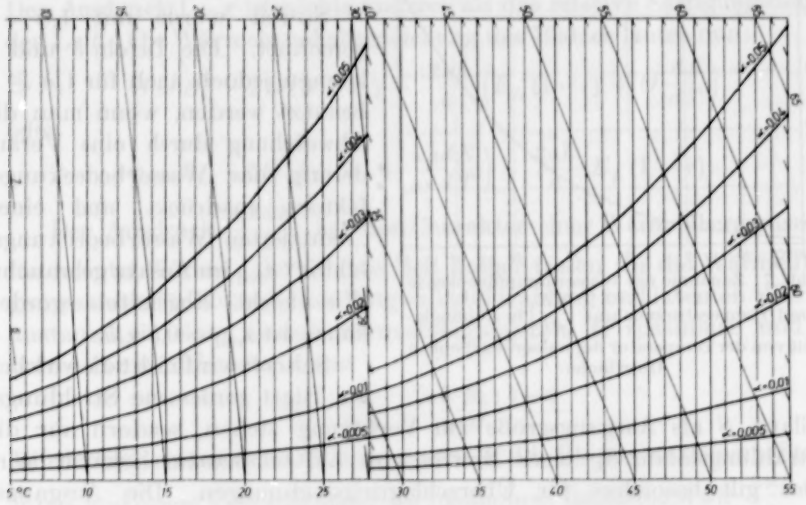

Abb. 6. Rechentafel zur Bestimmung der Blattemperatur für $0 \geq \alpha \geq 0{,}05$ (Gebrauchsanweisung im Text)

Lösung wird die Abb. 6 benutzt, die für niedrigere Wasserbedeckungsfaktoren gilt und in zwei vergrößerten Abszissenmaßstäben gehalten ist, um die Ablesungen zu erleichtern. Die Geraden fallen infolge der Maßstabänderung steiler ab. Für $b = 15 - 2 + 0{,}4 = 13{,}4$ liest man am Schnittpunkt mit der mit $\alpha = 0{,}02$ bezeichneten Kurve eine Blattemperatur von $12{,}95^0$ C ab. Die Blattemperatur liegt $2{,}05^0$ C unter der der Luft. Die Kühlung durch die Transpiration von etwa $0{,}05^0$ C ist äußerst gering und liegt im Bereich des Ablesefehlers.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß die Abb. 5 ganz allgemein zur Bestimmung der Temperatur eines feuchten Körpers unter verschiedenen Bedingungen, besonders aber zur Ermittlung des Strahlungsfehlers eines feuchten Thermometers ($\alpha = 1$) benutzt werden kann. Dabei ist die dem Thermometergefäß auf dem Wege der Wärmeleitung durch den Thermometerhals zugeführte Energie der Strahlungsbilanz

hinzuzufügen. Schließlich kann die Tafel auch als Psychrometertafel benutzt werden. Ein Beispiel: Das feuchte Thermometer eines ASSMANN-Psychrometers zeigte 6° C. Bei dieser Temperatur wird die Kurve $\alpha = 1$ von der Geraden $y_1 = 20 - T_L$ geschnitten. Gab das trockene Thermometer eine Lufttemperatur von 10° C an, ist der Dampfdruck der Luft gleich $\frac{20-10}{2} = 5{,}0$ Torr. Aus den gebräuchlichen Aspirations-Psychrometer-Tafeln liest man für diese Werte den gleichen Dampfdruck ab. Auf entsprechende Weise kann man den Dampfdruck auch aus den Angaben eines verstrahlten Psychrometers ermitteln.

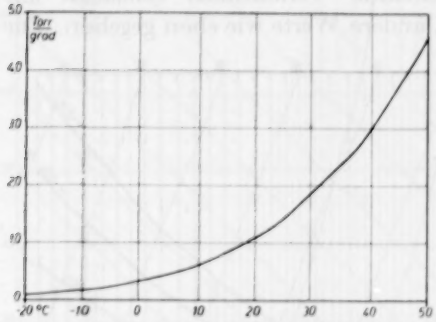

Abb. 7. Zunahme des Wasserdampfdruckes je Grad Temperaturzunahme $\left(\frac{dE}{dt}\right)$ in Abhängigkeit von der Temperatur der wasserabgebenden Oberfläche

Soweit wurde mit $1/a = 2$ gerechnet. Die Tafeln 5 und 6 können jedoch auch für $1/a \gtrless 2$ benutzt werden, wenn man die Abweichung durch eine Veränderung des Wasserbedeckungsfaktors ausdrückt und einen „reduzierten Wasserbedeckungsfaktor" α_{red} im Ansatz gebraucht. Wie leicht abgeleitet werden kann, ist $\alpha_{red} = 0{,}5\ \alpha/a$.

Sehr oft wird nicht die wirklich am Blatt gemessene Strahlungsbilanz S als Ausgangsgröße zur Verfügung stehen, sondern nur die Strahlungsbilanz S_L eines Blattes von Lufttemperatur bekannt sein. Das gilt besonders für Überschlagungsrechnungen. Die Ausgangsgleichung heißt dann

$$\Theta = S_L - 2\,(h + h_s)\,(T_{Bl} - T_L) - 2\,h\,\frac{\alpha}{a}\,(f(T_{Bl}) - e)\,.$$

Die Umordnung der Gleichung ergibt

$$-T_{Bl} + T_L + \frac{S_L}{2\,(h+h_s)} + \frac{h}{(h+h_s)}\,\frac{\alpha}{a}\,e = \frac{h}{(h+h_s)}\,\frac{\alpha}{a}\,f(T_{Bl})\,.$$

Um die Rechnung zu vereinfachen, soll wiederum ein reduzierter Wasserbedeckungsfaktor eingeführt werden; diesmal wird er durch $\alpha_{red\ L} = 0{,}5\,\frac{\alpha}{a}\,\frac{h}{(h+h_s)}$ definiert. Er ist nun auch von den Wärmeübergangszahlen für Konvektion und Strahlung abhängig.

c) Rechnerische Näherungslösung. Das näherungsweise Rechenverfahren zur Bestimmung der Blattemperatur geht von der vereinfachenden Annahme aus, daß der Sättigungsdampfdruck des Wassers linear mit der Temperatur anwächst. In Abb. 7 ist die Dampfdruckänderung je Grad Temperaturunterschied $\left(\frac{dE}{dT}\ [\text{Torr grad}^{-1}]\right)$ in ihrer Abhängigkeit von der Temperatur der wasserabgebenden Oberfläche eingezeichnet.

Es läßt sich ablesen, daß die Vereinfachung nur für verhältnismäßig geringe Temperaturunterschiede gilt. Eine Wasseroberfläche, deren Temperatur sich um Θ^0 C von der der Luft unterscheidet, hat dann nach der eben vorausgesetzten Annahme einen Dampfdruck von $E_L + \Theta \frac{dE}{dT}$ [Torr]. Weiter werde die relative Luftfeuchte mit r bezeichnet, wobei r als Dezimalbruch ausgedrückt werden soll. Der Wasserdampfdruck der Luft beträgt demnach $r \cdot E_L$. Zwischen einem Blatt von der Temperatur $T_L + \Theta$ und der Luft besteht eine Dampfdruckdifferenz von

$$E_L + \Theta \frac{dE}{dT} - r E_L = E_L (1 - r) + \Theta \frac{dE}{dT}.$$

Der Ausdruck $1 - r$ ist nichts anderes als das relative Sättigungsdefizit der Luft. Die Wärmehaushaltsgleichung des Blattes lautet nun:

$$0 = S_L - 2\Theta (h + h_s) - \frac{2\alpha h}{a} \left(E_L (1 - r) + \Theta \frac{dE}{dT} \right)$$

oder

$$0 = S_L - 2\Theta \left(h + h_s + \frac{\alpha h}{a} \frac{dE}{dT} \right) - \frac{2\alpha h}{a} E_L (1 - r).$$

Der Ausdruck $\frac{\alpha h}{a} \frac{dE}{dT}$ hat den Charakter einer Wärmeübergangszahl für latente Wärme. Der Einfachheit halber fassen wir die Wärmeübergangszahlen für Konvektion, langwellige Strahlung und latenten Wärmeaustausch in einer Gesamtwärmeübergangszahl H zusammen und erhalten für die Blattemperatur

$$\Theta = \frac{S_L}{2H} - \frac{\alpha h}{a} \frac{E_L (1 - r)}{H}.$$

Wiederum setzt sich die Übertemperatur des Blattes aus einem Strahlungs- und einem Verdunstungsglied zusammen. Bezeichnen wir $\frac{2\alpha h}{a}$ mit n, dann kann für die Blattemperatur auch geschrieben werden:

$$\Theta = \frac{S_L - n E_L (1 - r)}{2H},$$

der der Transpiration zuzuschreibende Anteil beträgt

$$\Theta_{trp} = \frac{S_L}{2} \left(\frac{1}{h + h_s} - \frac{1}{H} \right) + \frac{n E_L (1 - r)}{2H}.$$

Tabelle 4. *Werte zur Berechnung von H nach $H = h_s + ch$ bei verschiedenen Temperaturen und Wasserbedeckungsfaktoren (für 760 Torr Luftdruck)*

°C	h_s	c					
		$\alpha = 1{,}0$	0,5	0,25	0,10	0,05	0,01
10	0,007	2,252	1,626	1,313	1,125	1,063	1,012
20	0,008	3,18	2,09	1,545	1,218	1,109	1,022
30	0,009	4,62	2,81	1,905	1,362	1,181	1,036
40	0,010	6,78	3,89	2,446	1,578	1,289	1,058
50	0,011	9,92	5,46	3,23	1,892	1,446	1,089

Zahlenwerte der Größen H und n lassen sich mit Hilfe der Tabelle 3 und der Abb. 4 und 7 berechnen. Zur erleichterten Bestimmung wurde außerdem die Tabelle 4 zusammengestellt, die für beliebige Wasserbedeckungsfaktoren und bei Überschlagsrechnungen auch für Temperaturzwischenwerte linear interpolierbar ist.

8. Berechnete Blattemperaturen für drei Klimabeispiele

Die im vorigen Abschnitt geschilderten Lösungsverfahren ermöglichten es nun, die Temperaturen bestrahlter und transpirierender Blätter bei verschiedenen Wärmeübergangszahlen zu berechnen. Es wurden Beispiele aus drei Klimatypen ausgewählt: 1. „Trocken und heiß" (was etwa dem Steppenklima und der Trockenperiode des Savannenklimas entsprechen würde) mit Werten, die an Märztagen in Poona gemessen wurden. 2. „Feucht und heiß" (dem tropischen Küstenklima entsprechend) mit Klimaangaben von Bombay (Monat April) und 3. „Gemäßigt" mit Daten eines Tages im August in Berlin. Die drei Beispiele sollen kurz „Steppentag", „Tropentag" und „gemäßigter Tag" genannt werden. Die herrschende Lufttemperatur und -feuchte betrug für den Steppentag 40° C und 4 Torr ($r = 0{,}072$), für den Tropentag 35° C und 38 Torr ($r = 0{,}90$) und für den gemäßigten Tag 22° C und 12 Torr ($r = 0{,}61$); der Luftdruck war im ersten Beispiel 710 Torr, in den beiden anderen 760 Torr. Als Wasserbedeckungsfaktor wurde $\alpha = 0{,}03$ angenommen, ein Wert, der für in Poona wachsende *Canna*- und *Alocasia*-Pflanzen repräsentativ zu sein scheint, für tropische und gemäßigte Bedingungen aber vielleicht zu niedrig ist. Um jedoch die Unterschiede in der physikalischen Auswirkung der 3 gewählten Klimabeispiele klar hervortreten zu lassen, wurde trotzdem in allen Fällen der gleiche Wasserbedeckungsfaktor eingesetzt. Die Blattemperaturen wurden für vier Größenstufen der Strahlungsbilanz bei Lufttemperatur berechnet: Am Steppen- und Tropentag für $S_L = 1{,}00$; 0,50; 0,25 und 0,00 cal/2 cm² min; am gemäßigten Tag für $S_L = 0{,}60$; 0,30; 0,15 und 0,00 cal/2 cm² min. Die Berechnung der Blattemperaturen erfolgte für Wärmeübergangszahlen zwischen $h = 0{,}01$ und 0,25 cal/cm² min grad und erfaßte so den gesamten Bereich, innerhalb dessen h schwanken kann, wenn man von extremen Windgeschwindigkeiten absieht (vgl. Abb. 2). In den Tabellen 5, 6 und 7 sind die sowohl nach der graphischen Lösungsmethode als auch nach dem rechnerischen Näherungsverfahren gefundenen Blatttemperaturen T_{Bl} graphisch bzw. T_{Bl} rechnerisch (in Klammern) gegenübergestellt. Die Übereinstimmung ist vorzüglich, was bei dem groben Ansatz des rechnerischen Verfahrens überrascht. Größere Abweichungen der nach der Näherungslösung erhaltenen Blattemperaturen von den Resultaten der graphischen Methode treten nur beim Zusammenwirken von hohen Strahlungsbilanzen und sehr geringen Wärmeüber-

Tabelle 5. *Blattemperatur, Übertemperatur und Transpirationskühlung in °C an einem Steppentag in Abhängigkeit von der Wärmeübergangszahl und der Strahlungsbilanz*

S_L cal / 2cm²min		h [cal/cm² min grad]				
		0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
1,00	T_{Bl} graph.	60,9	52,7	44,8	41,6	38,9
	T_{Bl} rechn.	(61,9)	(53,1)	(45,0)	(41,6)	(39,0)
	Θ	20,9	12,7	4,8	1,6	−1,1
	Θ_{trp}	−4,8	−4,3	−3,6	−3,2	−3,0
0,50	T_{Bl} graph.	50,1	45,6	41,2	39,4	38,1
	T_{Bl} rechn.	(50,2)	(45,6)	(41,3)	(39,4)	(38,2)
	Θ	10,1	5,6	1,2	−0,6	−1,9
	Θ_{trp}	−2,7	−2,9	−3,6	−2,9	−2,8
0,25	T_{Bl} graph.	44,3	41,8	39,4	38,4	37,8
	T_{Bl} rechn.	(44,4)	(41,9)	(39,5)	(38,4)	(37,8)
	Θ	4,3	1,8	−0,6	−1,6	−2,2
	Θ_{trp}	−2,1	−2,4	−2,7	−2,7	−2,7
0,00	T_{Bl} graph.	38,5	38,1	37,6	37,4	37,3
	T_{Bl} rechn.	(38,5)	(38,1)	(37,7)	(37,3)	(37,4)
	Θ	−1,5	−1,9	−2,4	−2,6	−2,7
	Θ_{trp}	−1,5	−1,9	−2,4	−2,6	−2,7

gangszahlen auf; solche Bedingungen sind jedoch in der Natur selten. Weiter enthalten die Tabellen Werte der nach dem graphischen Verfahren erhaltenen Temperaturdifferenz Θ zwischen Blatt und Luft. Die durch Transpiration verursachte Temperatursenkung des Blattes ist in den mit Θ_{trp} bezeichneten Zeilen eingetragen.

Tabelle 6. *Blattemperatur, Übertemperatur und Transpirationskühlung in °C an einem Tropentag in Abhängigkeit von der Wärmeübergangszahl und der Strahlungsbilanz*

S_L cal / 2 cm² min		h [cal/cm² min grad]				
		0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
1,00	T_{Bl} graph.	61,4	52,3	43,5	39,6	36,9
	T_{Bl} rechn.	(59,2)	(50,5)	(42,4)	(38,9)	(36,5)
	Θ	26,4	17,3	8,5	4,6	1,9
	Θ_{trp}	−3,0	−2,2	−1,2	−0,7	−0,4
0,50	T_{Bl} graph.	47,2	42,6	38,6	36,9	35,6
	T_{Bl} rechn.	(47,1)	(42,7)	(38,6)	(36,8)	(35,6)
	Θ	12,2	7,6	3,6	1,9	0,6
	Θ_{trp}	−1,0	−1,0	−0,6	−0,4	−0,3
0,25	T_{Bl} graph.	41,0	38,7	36,8	35,9	35,2
	T_{Bl} rechn.	(41,0)	(38,7)	(36,7)	(35,8)	(35,2)
	Θ	6,0	3,7	1,8	0,9	0,2
	Θ_{trp}	−0,6	−0,6	−0,4	−0,3	−0,3
0,00	T_{Bl} graph.	34,85	34,85	34,85	34,85	34,85
	T_{Bl} rechn.	(34,88)	(34,86)	(34,81)	(34,80)	(34,79)
	Θ	−0,15	−0,15	−0,15	−0,15	−0,15
	Θ_{trp}	−0,15	−0,15	−0,15	−0,15	−0,15

Tabelle 7. *Blattemperatur, Übertemperatur und Transpirationskühlung in °C an einem gemäßigten Tag in Abhängigkeit von der Wärmeübergangszahl und der Strahlungsbilanz*

S_L [cal / 2 cm²min]		h [cal/cm²min grad]				
		0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
0,60	T_{Bl} graph.	37,9	31,9	26,4	24,2	22,7
	T_{Bl} rechn.	(38,0)	(32,0)	(26,5)	(24,2)	(22,7)
	Θ	15,9	9,9	4,4	2,2	0,7
	Θ_{trp}	−1,3	−1,0	−0,8	−0,6	−0,5
0,30	T_{Bl} graph.	29,9	26,8	24,0	22,9	22,1
	T_{Bl} rechn.	(29,9)	(26,8)	(24,1)	(22,9)	(22,1)
	Θ	7,9	4,8	2,0	0,9	0,1
	Θ_{trp}	−0,7	−0,7	−0,6	−0,5	−0,5
0,15	T_{Bl} graph.	25,9	24,2	22,8	22,2	21,9
	T_{Bl} rechn.	(25,8)	(24,2)	(22,8)	(22,2)	(21,9)
	Θ	3,9	2,2	0,8	0,2	−0,1
	Θ_{trp}	−0,4	−0,5	−0,5	−0,5	−0,6
0,00	T_{Bl} graph.	21,8	21,7	21,6	21,6	21,6
	T_{Bl} rechn.	(21,8)	(21,7)	(21,6)	(21,6)	(21,6)
	Θ	−0,2	−0,3	−0,4	−0,4	−0,4
	Θ_{trp}	−0,2	−0,3	−0,4	−0,4	−0,4

Die Tabellen veranschaulichen die starke Abhängigkeit der Übertemperatur eines Blattes von der Wärmeübergangszahl. Man kann mit Hilfe der Abb. 2 den verschiedenen Wärmeübergangszahlen bei festgesetzten Windgeschwindigkeiten die entsprechenden Blattgrößen zuordnen und umgekehrt. Bei einer Windgeschwindigkeit von ungefähr 1 m sec^{-1} hat ein Blatt von 5 mm Breite eine Wärmeübergangszahl von 0,10, ein Blatt von 5 cm Breite eine solche von 0,05 cal/cm²min grad. Sind beide Blätter den gleichen Bedingungen ausgesetzt, so steigt die Übertemperatur des größeren Blattes am Tropentag (mit $S_L = 1{,}00$) auf 8,6° C; das kleinere Blatt erwärmt sich nur um 4,6° C. Aus den Aufstellungen kann man weiter ablesen, daß selbst bei sehr starker Bestrahlung, die sich in einer Strahlungsbilanz von $S_L = 1{,}00$ auswirkt, die Blattemperatur unter die der Luft fallen kann, wenn nur das Sättigungsdefizit der Luft und die Wärmeübergangszahl des Blattes hoch genug sind. Die Abhängigkeit der Blattemperatur von der Luftfeuchte zeigt sich in der Transpirationskühlung Θ_{trp}. Der absolute Betrag der Temperatursenkung durch die Transpiration übersteigt nach den hier wiedergegebenen Beispielen nicht die 5° C-Grenze. Obwohl bei höheren Wasserbedeckungsfaktoren größere Kühleffekte errechnet werden, scheint es doch so, daß die Transpirationskühlung nicht ganz die lebenswichtige Rolle im Wärmehaushalt der Pflanzen spielt, die ihr mitunter zugewiesen wurde. Nur unter extremen Bedingungen, bei denen hohe Lufttemperatur, hohe Einstrahlung und geringe Luftbewegung zusammenwirken, wird die Pflanze durch die kühlende Wirkung der Transpiration vor dem Hitzetod bewahrt werden. Als ein solcher Fall könnten z. B.

in Tabelle 5 die Werte für $S_L = 1{,}00$ und $h < 0{,}05$ angesehen werden. Man kann (z. B. nach CURTIS u. CLARK 1950) annehmen, daß Blatttemperaturen über einem Grenzwert von 45 bis 55° C letal wirken; dann kommt einer Kühlung des Blattes von beispielsweise 52° auf 48° C schon entscheidende Bedeutung zu.

Schließlich ist noch zu bemerken, daß die Untertemperatur eines Blattes bei $S_L = 0{,}00$ etwas von der Wärmeübergangszahl abhängig ist. Durch die Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft ist die wahre Strahlungsbilanz des Blattes noch $S = -2\,\Theta\,h_s$. Erst wenn S gleich Null ist, wird Θ von h nicht mehr beeinflußt. Bei höheren Wärmeübergangszahlen ist Θ praktisch bereits bei kleinen Werten von S konstant (Aspiration des Psychrometers!).

Bei der Berechnung der nächtlichen Blattemperaturen muß beachtet werden, daß sich das Blatt unter den Taupunkt der Luft abkühlen kann. In einem solchen Falle schlägt sich Wasserdampf als Tau auf der Blattoberfläche nieder. (Einzelheiten über Taubildung bei HOFMANN 1955.) Der Wasserbedeckungsfaktor wird dann gleich eins. (Es sind sogar Wasserbedeckungsfaktoren denkbar, die größer als eins sind, da in dicht beieinanderliegenden Tröpfchen kondensierter Tau eine größere Oberfläche haben kann als die von ihm bedeckte ebene Blattoberfläche.) Die durch negative Strahlungsbilanz verursachten Untertemperaturen sind in ihrer Größe wiederum von der Wärmeübergangszahl abhängig. Unter bestimmten Bedingungen wird es also vorkommen, daß sich Tau nur auf großen Blättern mit geringen Wärmeübergangszahlen niederschlägt, während kleinere Blätter trocken bleiben. Da sich die einzelnen Teile eines Blattes ebenfalls in ihrer Wärmeübergangszahl unterscheiden (vgl. z. B. Abb. 3), werden nur solche Zonen betaut werden, deren Wärmeübergangszahlen unter einem kritischen Wert liegen. Die Berechnung der kritischen Wärmeübergangszahlen ist einfach: Hat ein Blatt durch Strahlung die Taupunkttemperatur T_t der Luft erreicht, dann besteht kein Dampfdruckgefälle zwischen Blatt und Luft mehr: $E_{Bl} - e = 0$. Damit fließt auch kein Wasserdampfstrom zwischen den beiden Körpern. Die Wärmehaushaltsgleichung vereinfacht sich so zu $S_L = 2\,(h + h_s)\,(T_t - T_L)$ und die kritische Wärmeübergangszahl ist

$$h_{\text{krit}} = \frac{S_L}{2\,(T_t - T_L)} - h_s .$$

Den vorher geschilderten drei Beispielstagen entsprechen folgende Nächte:

„Steppennacht" mit $S_L = -0{,}15$ cal/2 cm² min; $T_L = 20°$ C;
$e = 4{,}0$ Torr ($r = 0{,}23$; $T_t = -1{,}9°$ C).

„Tropennacht" mit $S_L = -0{,}09$ cal/2 cm² min; $T_L = 30°$ C;
$e = 30{,}0$ Torr ($r = 0{,}94$; $T_t = 29{,}0°$ C).

„Gemäßigte Nacht" mit $S_L = -0{,}13$ cal/2 cm² min; $T_L = 14°$ C;
$e = 11{,}4$ Torr ($r = 0{,}95$; $T_t = 13{,}2°$ C).

Tabelle 8. *Blattemperaturen, Übertemperaturen und Transpirationskühlung in °C in drei Nächten in Abhängigkeit von der Wärmeübergangszahl*

Klima	S_L [cal / 2 cm² min]		h [cal/cm² min grad]				
			0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
„Steppe"	−0,15	T_{Bl} graph.	15,7	17,2	18,5	19,1	19,5
		T_{Bl} rechn.	(15,7)	(17,2)	(18,5)	(19,1)	(19,5)
		Θ	−4,3	−2,8	−1,5	−0,9	−0,5
		Θ_{trp}	−0,1	−0,1	−0,2	−0,2	−0,2
„Tropen"	−0,09	T_{Bl} graph.	28,5	28,9	29,1	29,6	29,8
		T_{Bl} rechn.	(28,5)	(28,9)	(29,2)	(29,6)	(29,8)
		Θ	−1,5	−1,1	−0,9	−0,4	−0,2
		Θ_{trp}	0,9	0,4	−0,1	−0,1	−0,1
„gemäßigt"	−0,13	T_{Bl} graph.	11,6	12,4	13,0	13,4	13,7
		T_{Bl} rechn.	(11,6)	(12,4)	(13,0)	(13,4)	(13,7)
		Θ	−2,4	−1,6	−1,0	−0,6	−0,3
		Θ_{trp}	1,3	0,8	0,1	—	—

Als kritische Wärmeübergangszahl errechnet man für die Steppennacht $h_{krit} = -0{,}005$ cal/cm²min grad. Negative Werte für h sind aber nicht möglich. In dieser Nacht kann also kein Tau fallen. Für die Tropennacht und die gemäßigte Nacht sind $h_{krit} = 0{,}036$ bzw. $h_{krit} = 0{,}074$ cal/cm² min grad. Die Berechnung der Blatttemperaturen für $h < h_{krit}$ hat also mit $\alpha = 1{,}00$ zu geschehen. Da nachts die Stomata im allgemeinen geschlossen sind, wurde in allen drei Beispielen mit $\alpha = 0{,}01$ für $h > h_{krit}$ gerechnet. Man erhält als Ergebnis die in Tabelle 8 zusammengestellten Werte.

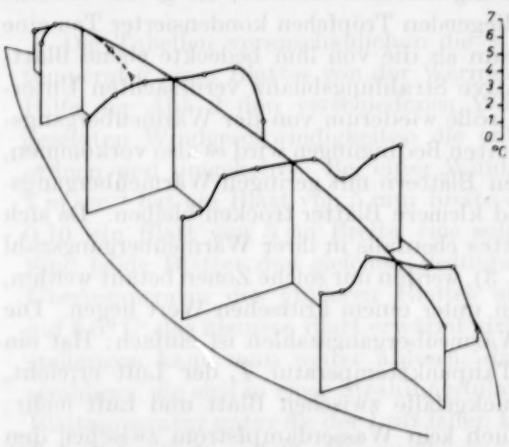

Abb 8. Temperaturtopographie eines Blattes von *Canna indica* (14,5 × 34 cm) zur Mittagszeit. Mittlere Übertemperatur $\Theta = 5{,}5°$ C, Windgeschwindigkeit $u = 3{,}28$ m sec⁻¹, Strahlungsbilanz $S = 0{,}972$ cal/2 cm² min

Die durch die nächtliche Ausstrahlung hervorgerufenen Untertemperaturen können bei den geringen Wärmeübergangszahlen, wie sie in klaren Nächten herrschen, verhältnismäßig erheblich sein. Im Beispiel der Steppennacht sinkt die Blattemperatur um mehr als 4° C bei $h = 0{,}01$ cal/cm² min grad. Die Unterkühlung kann noch größere Werte annehmen; denn es wurden in einigen Nächten in Poona Windgeschwindigkeiten gemessen, die unter 0,1 m sec⁻¹ lagen. Die photographischen Aufzeichnungen eines thermoelektrischen Anemometers zeigten in einigen

Fällen sogar absolute Luftruhe, wenn auch nur von der Dauer weniger Sekunden, und aus der Form der registrierten Kurve ergibt sich, daß die Luftströmung laminar verlief. Die Temperatursenkung durch Transpiration ist nachts wegen der kleinen Wasserbedeckungsfaktoren und der großen relativen Feuchte sehr gering. Die Erwärmung des Blattes durch die bei einem Taufall freiwerdende Kondensationswärme des Wassers ist dagegen viel gewichtiger und kann in unseren Beispielen die 1° C-Grenze durchaus übersteigen. Sie kann jedoch nicht, wie leicht zu beweisen ist, so groß werden, daß der Taupunkt oder gar die Lufttemperatur überschritten wird.

Zum Schluß dieses Abschnittes muß darauf hingewiesen werden, daß mit dem Ausdruck Blattemperatur in der vorliegenden Arbeit stets ein Mittelwert gemeint ist. Zwischen den einzelnen Blatteilen können dabei große Temperaturunterschiede bestehen, wie die in Abb. 8 dargestellte Temperaturtopographie zeigt, die an einem *Canna*-Blatt gemessen wurde. Während sich die mittlere Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft auf 5,5° C belief, betrug das Maximum (in Blattmitte) 7° C und das Minimum (am Blattrande) 0,6° C.

9. Die Berechnung der Transpiration

Es ist nun leicht, aus der ermittelten Blattemperatur, der Wärmeübergangszahl, dem Wasserbedeckungsfaktor und dem Wasserdampfdruck der Luft die Transpiration zu berechnen:

$$V = -2\,\frac{\alpha}{a}\,h\,(E_{Bl} - e)\ \text{cal/2 cm}^2\ \text{min oder}$$

$$V = -2\,\frac{\alpha}{a\,d}\,h\,(E_{Bl} - e)\ \text{g Wasser/2 cm}^2\ \text{min}.$$

E_{Bl} läßt sich als Sättigungsdampfdruck des Wassers bei der Temperatur T_{Bl} aus Dampfdrucktafeln oder aus der Abb. 5 ablesen.

Die der Transpirationsermittlung vorangehende Temperaturberechnung kann bei Anwendung einer Näherungslösung ganz umgangen werden. Im Abschnitt 7 c wurde für $E_{Bl} - e$ in erster Näherung $E_L\,(1 - r) + \Theta\,\frac{dE}{dT}$ geschrieben. Unter Verwendung von $\frac{2\,\alpha\,h}{a} = n$ ist daher $-V = n\,E_L\,(1 - r) + n\,\Theta\,\frac{dE}{dT}$. Um Θ zu eliminieren, wird

$$\Theta = \frac{S_L}{2\,H} - \frac{n\,E_L\,(1-r)}{2\,H}$$

eingesetzt:

$$-V = n\,E_L\,(1 - r) + n\,\frac{dE}{dT}\cdot\frac{E_L\,(1-r)}{2\,H} \qquad (4)$$

Zur weiteren Vereinfachung soll m für $\frac{n}{2\,H}\,\frac{dE}{dT} = \frac{\alpha\,h\,dE}{a\,H\,dT}$ stehen. Das ergibt eine von der Blattemperatur freie Formel

$$-V = m\,S_L + n\,(1 - m)\,E_L\,(1 - r).$$

Aus dieser Gleichung läßt sich folgendes ablesen:

1. Die Transpiration setzt sich aus einem Strahlungs- und einem Konvektions-Luftfeuchte-Glied zusammen (= Strahlungs- und Ventilations-Feuchte-Glied bei HOFMANN 1956). [Das gleiche gilt auch für den Taufall, der nach HOFMANN (1955) aus einem Strahlungs- und einem Verdunstungsglied besteht.]

2. Für Wärmeübergangszahlen, die gegenüber den Strahlungsübergangszahlen nicht zu klein sind ($h/H = \text{const}$), ist das Strahlungsglied praktisch von der Wärmeübergangszahl unabhängig und damit nicht durch Windgeschwindigkeit und Blattgröße beeinflußt.

3. Unter der in 2. genannten Bedingung wächst das Konvektions-Luftfeuchte-Glied linear mit der Wärmeübergangszahl an. Die Transpiration eines Blattes abzüglich des Strahlungsgliedes muß damit ungefähr der Quadratwurzel der Windgeschwindigkeit folgen, vorausgesetzt, daß sich dabei der Wasserbedeckungsfaktor nicht ändert.

4. In wasserdampfgesättigter Atmosphäre ist die Transpiration nur noch strahlungsabhängig und vom Winde unbeeinflußt. Bei kleinen Wärmeübergangszahlen ist ein leichter Anstieg mit steigendem h zu erwarten. Er beruht auf dem unter dieser Bedingung nicht zu vernachlässigenden Anteil der Strahlungsübergangszahl h_s an der Gesamtwärmeübergangszahl H.

5. Da dE/dT und damit der Koeffizient m mit steigender Temperatur zunimmt (Abb. 7), wächst mit der Temperatur auch der Grad der transpirationsfördernden Wirkung der Strahlung (vgl. HOFMANN 1956), während der Wirkungsgrad des Sättigungsdefizits mit steigender Temperatur zurückgeht. In Tabelle 9 sind Zahlenwerte von m in ihrer Abhängigkeit von α, h und T_L zusammengestellt.

Die Feststellung, nach der sich die Transpiration aus 2 Komponenten zusammensetzt, bietet eine Erklärung (wenn auch nicht die einzige) für die von RASCHKE (1956) erwähnte verschieden starke Windabhängigkeit senkrecht und waagerecht exponierter *Alocasia*-Blätter. Die Transpiration waagerechter Blätter erwies sich als nur wenig von der Luftbewegung beeinflußt. Ein senkrechtes Blatt zeigte hingegen starke durch den Wind verursachte Transpirationsschwankungen. Im ersten Falle war das von der Wärmeübergangszahl nahezu unabhängige Strahlungsglied infolge der hohen Strahlungsbilanz ausschlaggebend, während beim senkrechten Blatt mit geringem Strahlungsempfang das windabhängige Konvektions-Luftfeuchte-Glied den größten Teil der Wasserdampfabgabe bestritt.

Nun soll die zu Beginn gestellte Frage beantwortet werden, ob die Verringerung der Blattgröße im trockenen und heißen Klima auf irgendeine Weise vorteilhaft für die Pflanze ist. Im vorigen Abschnitt war gezeigt worden, daß die Übertemperaturen bestrahlter Blätter recht unter-

Tabelle 9. *Zahlenwerte für m bei verschiedenen Wasserbedeckungsfaktoren, Wärmeübergangszahlen und Temperaturen (bei p = 760 Torr)*

°C	h	m						
		α = 1,0	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,01
10	0,01	0,410	0,270	0,156	0,086	0,0416	0,0213	0,00735
	0,02	0,477	0,311	0,183	0,104	0,0536	0,0268	0,00926
	0,05	0,519	0,353	0,213	0,120	0,0615	0,0316	0,0108
	0,10	0,534	0,365	0,224	0,126	0,0658	0,0336	0,0116
	0,25	0,545	0,375	0,230	0,131	0,0681	0,0350	0,0120
20	0,01	0,545	0,376	0,226	0,130	0,0690	0,0553	0,0121
	0,02	0,606	0,436	0,280	0,160	0,0846	0,0448	0,0156
	0,05	0,652	0,486	0,320	0,190	0,1007	0,0525	0,0185
	0,10	0,666	0,503	0,334	0,202	0,1082	0,0571	0,0198
	0,25	0,678	0,514	0,346	0,209	0,1122	0,0596	0,0207
30	0,01	0,658	0,489	0,323	0,188	0,104	0,0549	0,0190
	0,02	0,716	0,556	0,380	0,238	0,132	0,0704	0,0242
	0,05	0,753	0,601	0,434	0,279	0,155	0,0849	0,0297
	0,10	0,768	0,626	0,452	0,294	0,166	0,0909	0,0320
	0,25	0,778	0,636	0,466	0,304	0,174	0,0951	0,0338
40	0,01	0,740	0,590	0,425	0,267	0,151	0,0814	0,0289
	0,02	0,792	0,656	0,490	0,328	0,187	0,1047	0,0371
	0,05	0,826	0,706	0,548	0,377	0,219	0,1270	0,0459
	0,10	0,839	0,726	0,564	0,397	0,239	0,1367	0,0498
	0,25	0,850	0,734	0,581	0,409	0,249	0,1430	0,0525
50	0,01	0,856	0,687	0,531	0,359	0,214	0,1155	0,0425
	0,02	0,856	0,750	0,596	0,429	0,261	0,1490	0,0558
	0,05	0,884	0,790	0,651	0,481	0,308	0,1813	0,0697
	0,10	0,890	0,803	0,669	0,505	0,326	0,1950	0,0750
	0,25	0,892	0,812	0,683	0,517	0,343	0,2042	0,0791

schiedlich sein können und kleinere Blätter weniger der Gefahr einer Überhitzung in der Sonne ausgesetzt sind. Dieser positiven Auswirkung der kleineren Blattabmessung steht eine nachteilige gegenüber: Nach dem Ergebnis dieses Abschnittes verdunstet das kleinere Blatt stets mehr Wasser je Flächeneinheit als das größere. Eine transpirationsmindernde Wirkung einer erhöhten Wärmeübergangszahl ist selbst bei starker Einstrahlung nicht möglich, da das Strahlungsglied praktisch konstant ist, das Konvektions-Luftfeuchte-Glied mit der Wärmeübergangszahl aber anwächst. Damit wird der von HUBER (1935) stammende Satz bekräftigt: „Die Zerteilung und Verkleinerung der Organe auf sonnigen Standorten ist sogar eines der wenigen Beispiele, wo die Forderungen des Wärmehaushaltes die der Wasserbilanz überwiegen". Wenn die Transpirationswerte einer kleinblättrigen Pflanze höher genannt werden, so bezieht sich das auf die Flächeneinheit. Da mit der Verringerung oder Aufteilung der Fläche der einzelnen Blätter (im morphologischen Sinne) eine Reduktion der gesamten transpirierenden Oberfläche (verglichen mit großblättrigen Schwesterarten) einhergeht, ist der totale Wasserverlust der kleinblättrigen Pflanze trotz besserer Übergangsverhältnisse geringer.

Die Transpirationswerte eines Blattes stellen wiederum Mittelwerte dar. Die Transpirationsintensitäten der Blatteile können sich sehr unterscheiden. Meist ist die Transpiration am Rande des (intakten) Blattes am stärksten. Die Transpirationstopographie gleicht etwa der Verteilung der Wärmeübergangszahlen (Abb. 3). Ein Beispiel ist bei RASCHKE (1954) abgebildet.

10. Berechnete Transpirationswerte aus verschiedenen Klimazonen

Im Abschnitt 8 waren Blattemperaturen für einen Steppentag, einen Tropentag und einen Tag in der gemäßigten Zone zusammengestellt worden. Aus diesen Werten und aus den bereits dort angegebenen Bedingungen wurden die zugehörigen Transpirationswerte berechnet. Die Ergebnisse werden durch die Abb. 9, 10 und 11 wiedergegeben. Während die Abb. 10 und 11 in gleichem Maßstab gehalten sind, ist die Transpiration im Beispiel des Steppentages (Abb. 9) infolge der geringen Luftfeuchte so hoch, daß die Transpirationsskala auf $^1/_5$ gegenüber der in den anderen beiden Abbildungen angewandten verkleinert werden mußte. Die Ergebnisse bestätigen die bereits aus der Näherungsformel gezogenen Schlüsse: bei ausgeglichener Strahlungsbilanz S_L wächst die Transpiration linear mit der Wärmeübergangszahl. Die Steigung hängt vom Sättigungsdefizit der Luft und vom Temperaturniveau ab, auf dem sich der Verdunstungsvorgang abspielt. Das Strahlungsglied der Transpiration kann, abgesehen von niedrigen Wärmeübergangszahlen, als von der Wärmeübergangszahl unabhängig betrachtet werden. Der Wirkungsgrad der Strahlungsbilanz nimmt mit steigendem Temperaturniveau zu (Abstand der Kurven für die verschiedenen Strahlungsbilanzen!). Demnach kann man für $h > 0{,}05$ die Transpirationsfunktion durch eine Beziehung von der Form $-V =$

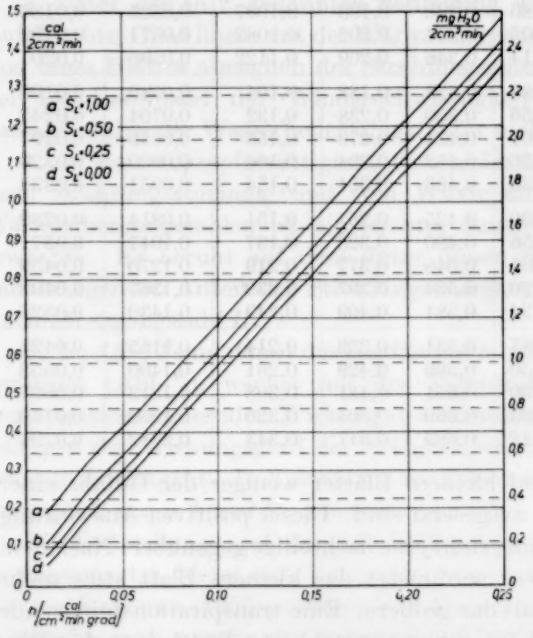

Abb. 9. Transpiration an einem „Steppentag" in Abhängigkeit von Wärmeübergangszahl h und Strahlungsbilanz S_L. Bedingungen s. S. 222

$a\ S_L + b\ h\ E_L\ (1 - r)$ ausdrücken, die mit der im vorigen Kapitel aufgestellten Näherungslösung übereinstimmt. Weiter läßt sich ablesen, daß ein Anwachsen der Strahlungsbilanz bei gleichem Temperaturniveau eine vom Sättigungsdefizit der Luft unabhängige absolute Transpirationssteigerung hervorruft. Die auf die Gesamttranspiration bezogene (relative) Steigerung der Transpiration ist jedoch bei großer Trockenheit (Steppentag) geringer als bei hoher Luftfeuchte (Tropentag). Ein Beschatten der Pflanzen senkt die Transpiration im Tropenklima relativ viel mehr als bei geringem Sättigungsgrad der Luft, obwohl in beiden Fällen (gleiche Lufttemperatur vorausgesetzt) der absolute Betrag der Transpirationssenkung der gleiche ist.

Zur Abschätzung der Genauigkeit des Näherungsverfahrens sind in Tabelle 10 einige Ergebnisse beider Lösungsmethoden einander gegenübergestellt.

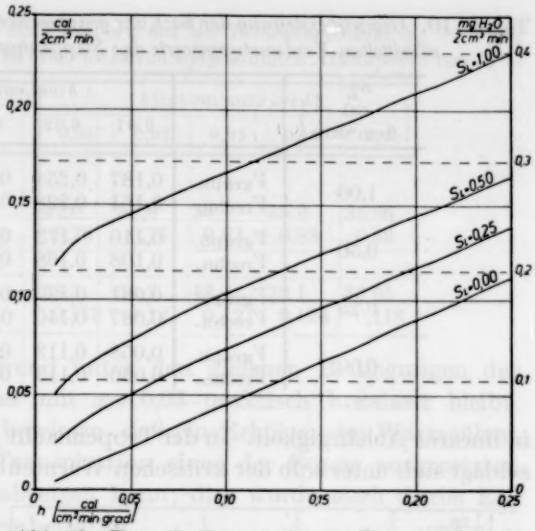

Abb. 10. Transpiration an einem „Tropentag" in Abhängigkeit von Wärmeübergangszahl h und Strahlungsbilanz S_L. Bedingungen s. S. 222

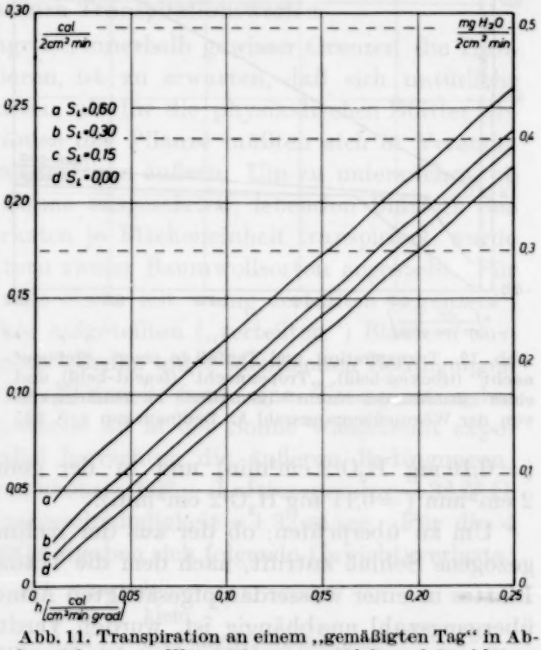

Abb. 11. Transpiration an einem „gemäßigten Tag" in Abhängigkeit von Wärmeübergangszahl h und Strahlungsbilanz S_L. Bedingungen s. S. 222

Die Abb. 12 zeigt die den eben geschilderten Tagen entsprechenden Nachtwerte. Die Transpiration folgt der Wärmeübergangszahl wiederum

Tabelle 10. *Gegenüberstellung der nach der graphischen und der rechnerischen Methode ermittelten Verdunstungswerte des Steppentages (in cal/2 cm² min)*

S_L $\left[\frac{\text{cal}}{2\,\text{cm}^2\text{min}}\right]$		h [cal/cm² min grad]				
		0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
1,00	Vgraph.	0,187	0,254	0,415	0,695	1,490
	Vrechn.	0,151	0,223	0,408	0,684	1,497
0,50	Vgraph.	0,110	0,173	0,347	0,613	1,420
	Vrechn.	0,108	0,168	0,342	0,613	1,422
0,25	Vgraph.	0,081	0,139	0,306	0,578	1,398
	Vrechn.	0,087	0,140	0,308	0,577	1,384
0,00	Vgraph.	0,058	0,113	0,275	0,545	1,353
	Vrechn.	0,066	0,113	0,275	0,541	1,347

in linearer Abhängigkeit. In der Tropennacht und der gemäßigten Nacht schlägt sich unterhalb der kritischen Wärmeübergangszahl Tau am Blatt nieder. Der Wasserbedeckungsfaktor nimmt dann den Wert 1 an; die Wasserdampfaustauschkurve weist daher einen Knick auf. Mit kleiner werdender Wärmeübergangszahl bzw. kleiner werdendem Sättigungsdefizit der Luft strebt der Taufall einem Grenzwert zu, der nicht überschritten werden kann. Er beträgt für 100% Luftfeuchte und $h = 0{,}01$ cal/cm² min grad in der angegebenen Tropennacht 0,059 cal/2 cm² min (= 0,10 mg H_2O/2 cm² min) und in der gemäßigten Nacht 0,063 cal/2 cm² min (= 0,11 mg H_2O/2 cm² min).

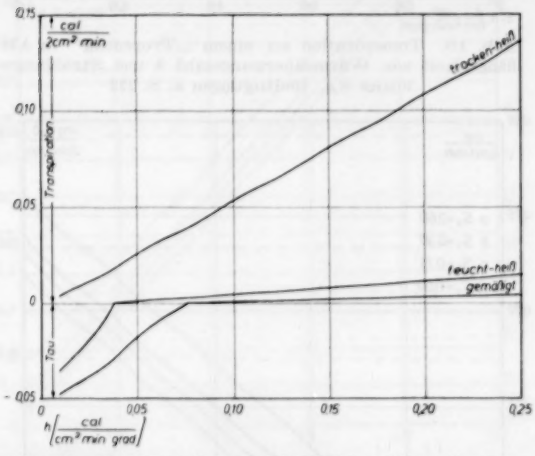

Abb. 12. Transpiration und Taufall in einer „Steppennacht" (trocken-heiß), „Tropennacht" (feucht-heiß), und einer „gemäßigten Nacht" (gemäßigt) in Abhängigkeit von der Wärmeübergangszahl h. Bedingungen s. S. 225

Um zu überprüfen, ob der aus der rechnerischen Näherungslösung gezogene Schluß zutrifft, nach dem die Transpiration eines bestrahlten Blattes in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre von der Wärmeübergangszahl unabhängig ist, wurden Verdunstungswerte für je ein vollkommen feuchtes und begrenzt feuchtes Blatt nach dem graphischen Verfahren ermittelt (Tabelle 11).

Die Zahlen zeigen, daß die Verdunstung eines bestrahlten nassen Körpers ($\alpha = 1{,}0$) in Luft von 100% Feuchte mit der Wärmeübergangs-

Tabelle 11. *Transpiration von zwei Blättern mit der Strahlungsbilanz $S_L = 1{,}0$ cal/2 cm² min und $\alpha = 1{,}0$ bzw. 0,03 in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre von 35° C*

	h [cal/cm² min grad]				
	0,01	0,02	0,05	0,10	0,25
$\alpha = 1{,}0$					
T_{Bl} [°C]	42,0	38,8	36,7	35,9	35,36
$-V$ [cal/2 cm² min]	0,76	0,77	0,81	0,83	0,89
$\alpha = 0{,}03$					
T_{Bl} [°C]	58,3	50,2	42,4	39,1	36,65
$-V$ [cal/2 cm² min]	0,113	0,121	0,121	0,124	0,118

zahl etwas zunimmt, während unter den gleichen Bedingungen der Wasserverlust eines Blattes mit $\alpha = 0{,}03$ praktisch konstant bleibt. Damit wurde noch einmal bewiesen, daß ein Erhöhen der Wärmeübergangszahl keinesfalls die Transpiration eines der Sonne ausgesetzten physikalischen Blattes herabsetzen kann; dies wurde auch durch Experimente mit Blattmodellen bestätigt.

11. Ein Beispiel für die Berechnung von Wasserbedeckungsfaktoren aus gemessenen Transpirationswerten

Da die Pflanze in der Lage ist, innerhalb gewisser Grenzen die Transpirationsverluste zu regulieren, ist zu erwarten, daß sich natürliche Blätter etwas anders verhalten, als für die physikalischen Blätter abgeleitet wurde. Die Reaktionen der Pflanze müßten sich in Veränderungen der Wasserbedeckungsfaktoren äußern. Um zu untersuchen, ob unter einer Zahl von der Sonne ausgesetzten, lebenden Blättern das kleinste tatsächlich am stärksten je Flächeneinheit transpiriert, wurde folgender Versuch mit Blättern zweier Baumwollsorten angestellt. Für das Experiment wurde je eine Sorte mit wenig zerteilten („ganzen") Blättern und eine mit stärker aufgeteilten („zerteilten") Blättern ausgewählt. Die Versuchspflanzen wurden unter identischen Bedingungen herangezogen. Während der Blütezeit fand eine Transpirationsbestimmung nach der Wägemethode an in der Sonne waagerecht exponierten Blättern statt. Dabei herrschten die äußeren Bedingungen: $J = 1{,}40$ cal/cm² min, Sonnenhöhe $= 60°$, Lufttemperatur $= 32{,}2°$ C, Dampfdruck $= 4{,}5$ Torr, Windgeschwindigkeit $= 1{,}32$ m/sec. Für die 4 in Abb. 13 abgebildeten Blätter ergaben sich folgende Gewichtsverluste:

„ganz"		„zerteilt"		
groß	klein	groß	klein	
11,12	1,25	4,42	0,45	mg H_2O/Blatt min.
Das entspricht				
0,143	0,091	0,123	0,093	cal/2 cm² min.

Die kleineren Blätter transpirierten demnach weniger je Flächeneinheit. Unter den gleichen Bedingungen müßten die auf die Flächen-

einheit umgerechneten Verdunstungswerte physikalischer Blätter mit gleichen Wasserbedeckungsfaktoren für das große und „ganze" Blatt am niedrigsten und für das kleine und „zerteilte" Blatt am höchsten ausgefallen sein. Das Versuchsergebnis zwingt daher zu dem Schluß, daß die untersuchten Pflanzen in der Lage waren, die Transpiration wirksam zu regulieren. Zur Berechnung der Wasserbedeckungsfaktoren wurde von der Gleichung $V = \frac{2\,h\,\alpha}{a}(E_{Bl} - e)$ ausgegangen. Dann war $\alpha = \frac{V a}{2\,h\,(E_{Bl} - e)}$ Die Gleichung enthält die Unbekannten h und T_{Bl} (über E_{Bl}), die zunächst bestimmt werden mußten. Zur Ermittlung von h wurden wassergetränkte Fließpapiermodelle der vier Blätter im Laboratorium einer Windgeschwindigkeit von 1,32 m/sec ausgesetzt. Sie verdunsteten folgende in latenter Wärme ausgedrückte Wassermengen:

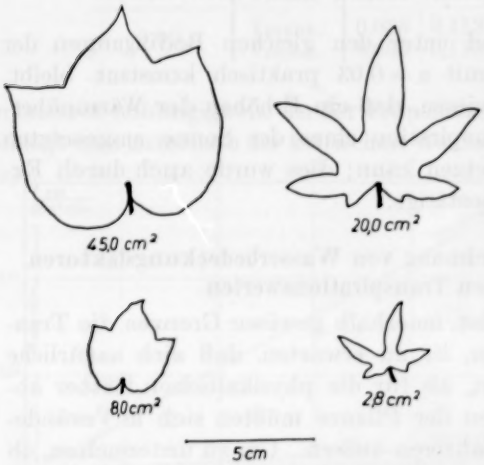

Abb. 13. Form und Größe der für Transpirationsmessungen verwandten Baumwollblätter

0,480 0,577
0,550 0,770 cal/2 cm² min.

Die Strahlungsbilanz war im Laboratorium $S_L = 0{,}0$; damit ist $V = -2\,\Theta\,(h + h_s)$ und $h = \frac{V}{-2\Theta} - h_s$. Nach Einsetzen der gemessenen Temperaturdifferenz $\Theta = -4{,}6^0$ C und von $h_s = 0{,}008$ cal/cm² min grad erhält man die Wärmeübergangszahlen

0,052 0,063 0,060 0,084 cal/cm² min grad.

Nun kann man die Blattemperaturen berechnen: $\Theta = \Theta_s + \Theta_{trp} = \frac{S - V}{2\,h}$. Für alle vier Blätter war $S = 0{,}87$ cal/2 cm² min. Das Strahlungsglied Θ_s, das Transpirationsglied Θ_{trp}, die Übertemperatur Θ und die Blattemperatur T_{Bl} hatten folgende Werte:

Θ_s:	8,4	6,9	7,2	5,2° C
Θ_{trp}:	−1,4	−0,7	−1,0	−0,6° C
Θ:	7,0	6,2	6,2	4,6° C
T_{Bl}:	39,2	38,4	38,4	36,8° C.

Als Wasserbedeckungsfaktoren der vier Blätter wurden schließlich bei $p = 710$ Torr gefunden:

0,0137 0,0075 0,0107 0,0064.

Wenn man die untersuchten Blätter nach den zugehörigen (auffällig niedrigen) Wasserbedeckungsfaktoren ordnet, ergibt sich die umgekehrte Folge einer nach den Wärmeübergangszahlen aufgestellten Reihe. Die beiden untersuchten Baumwollpflanzen waren also befähigt, einer erhöhten Beanspruchung ihres Wasserhaushaltes sehr wirksam zu begegnen. Die Verkleinerung und Zerteilung der Blattfläche im heißen Klima beugt somit einer Überhitzung der Blätter vor. Der damit verbundene Nachteil der Transpirationsförderung wird, jedenfalls in dem angeführten Beispiel, durch die Reaktionsfähigkeit der Pflanze ausgeglichen oder gar überkompensiert. Ob das auch für andere Pflanzen zutrifft, bleibt noch zu untersuchen.

12. Relative Transpiration und Wasserbedeckungsfaktor

Es hat sich eingebürgert, die pflanzliche Transpiration mit der unter den gleichen Bedingungen von einem Evaporimeter verdunsteten Wassermenge durch Bildung des Verhältnisses Transpiration: Evaporation zu vergleichen. Dieser Quotient wurde von LIVINGSTON (1906) mit „relativer Transpiration", von BRIGGS u. SHANTZ (1916) mit „Transpirationskoeffizient" bezeichnet. Man nahm an, daß durch diesen Begriff die inneren transpirationsbeeinflussenden Faktoren der Pflanze repräsentiert würden. In der Erkenntnis, daß Transpiration und Evaporation nur dann miteinander vergleichbar sind, wenn Blatt und Evaporimeter in übereinstimmender Weise auf Änderungen in den äußeren Bedingungen reagieren, wurden „Blattevaporimeter" konstruiert (z. B. von STÅLFELT 1932, PISEK u. BERGER 1938, MARTIN 1943) und zur Bestimmung der relativen Transpiration verwandt. Aber selbst dann ist die relative Transpiration noch kein eindeutiger Faktor; denn Blatt und Evaporimeter sind während des Versuches auf verschiedenen Temperaturen. Damit bestehen zwischen Blatt und Luft und zwischen Evaporimeter und Luft verschiedene Dampfdruckdifferenzen. Die relative Transpiration wird dargestellt durch

$$R = \frac{\alpha (E_{Bl} - e)}{E_{Evap} - e}.$$

Näherungsweise kann nach (4) geschrieben werden

$$R = \frac{\alpha \left(E(1-r) + \frac{(S-V)}{2h} \cdot \frac{dE}{dT} \right)}{E(1-r) + \frac{(S''-V'')}{2h''} \cdot \frac{dE}{dT}},$$

wobei '' die zum Evaporimeter gehörigen Werte markiert. Somit ist die relative Transpiration nicht allein von den durch den Wasserbedeckungsfaktor ausgedrückten physiologischen Eigenschaften des Blattes, sondern auch vom absoluten Sättigungsdefizit der Luft, den

Strahlungsbilanzen und den Wärmeübergangszahlen, schließlich über dE/dT dazu noch vom Temperaturniveau abhängig. Die Ermittlung der relativen Transpiration ist nur von Wert, wenn gleichzeitig Temperatur und Feuchte der Luft und die Strahlungsbilanzen S und S'' gemessen wurden. Der Wasserbedeckungsfaktor ist hingegen ein von allen äußeren Bedingungen befreiter Beiwert. Es wird daher vorgeschlagen, die physiologischen Komponenten der Transpiration im Wasserbedeckungsfaktor zusammenzufassen. Er ist nur indirekt über die Physiologie des Blattes von Temperatur, Luftfeuchte und Strahlungsempfang abhängig; diese Beziehungen sind ebenso wie die zur Wasserversorgung der Pflanze noch nicht quantitativ untersucht worden.

Zusammenfassung

1. Die vorliegende Arbeit geht von der Frage nach dem physikalischen Einfluß der Blattgröße und des Windes auf die Temperatur und die Transpiration eines bestrahlten Blattes aus.

2. Die Untersuchungen gelten für „physikalische" Blätter, die sich von den „physiologischen" durch Reaktionslosigkeit unterscheiden. Eine Reaktion kann jedoch durch willkürliches Verändern eines Koeffizienten berücksichtigt werden.

3. Der Wärmeaustausch eines Blattes mit der umgebenden Luft wird durch das Produkt aus der Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft und einer Wärmeübergangszahl ausgedrückt. Die Wärmeübergangszahl hängt von Form und Größe des Blattes sowie von der Windgeschwindigkeit ab.

4. Der Wasserdampfaustausch eines Blattes ist ebenfalls der Wärmeübergangszahl proportional. Er wird weiterhin vom Wasserdampfdruckunterschied zwischen Blatt und Luft bestimmt. Der physiologische Einfluß des Blattes auf die Transpiration wird durch einen Wasserbedeckungsfaktor in die Rechnung aufgenommen.

5. Die einem bestrahlten Blatt nach Berücksichtigung des langwelligen Strahlungsaustausches verbleibende Strahlungsleistung wird in der Strahlungsbilanz zusammengefaßt. Die Eigenschaften des Blattes als Strahlungspartner im Sichtbaren und im Infraroten werden kurz beschrieben.

6. Wärme- und Wasserdampfübergang stehen in der Wärmehaushaltsgleichung mit der Strahlungsbilanz in Beziehung.

7. Die Blattemperatur kann ausgehend von der Wärmehaushaltsgleichung entweder nach einem graphischen Verfahren oder einer rechnerischen Näherungsmethode folgend ermittelt werden. Die Temperaturdifferenz zwischen Blatt und Luft setzt sich aus einem Strahlungs- und einem Transpirationsglied zusammen. Die Größe des ersteren ist der Wärmeübergangszahl umgekehrt proportional, während die des

letzteren nur wenig von der Wärmeübergangszahl abhängig ist. Auch die Transpirationskühlung läßt sich berechnen.

8. Der Einfluß von Strahlungsbilanz und Wärmeübergangszahl auf die Temperaturen transpirierender Blätter wird für 3 Klimatypen dargestellt.

9. Die Berechnung der Transpiration geht von der Blattemperatur aus. Auch eine direkte Näherungslösung wird angegeben. Die Transpiration setzt sich aus einem Strahlungs- und einem Konvektions-Luftfeuchte-Glied zusammen. Die Größe des Strahlungsgliedes ist praktisch von der Wärmeübergangszahl unabhängig; das Konvektions-Luftfeuchte-Glied ist der Wärmeübergangszahl direkt proportional. Eine transpirationsmindernde Wirkung der wachsenden Wärmeübergangszahl eines bestrahlten Blattes ist unmöglich.

10. Berechnete Transpirations- und Tauwerte werden für 3 Klimabeispiele zusammengestellt.

11. An Hand von Messungsergebnissen wird die sich in unterschiedlichen Wasserbedeckungsfaktoren äußernde Beeinflussung der Transpiration durch die Pflanze veranschaulicht.

12. Der Begriff „relative Transpiration" stellt keinen von allen äußeren Bedingungen befreiten Kennwert der Pflanze dar. Es wird daher vorgeschlagen, den physiologischen Zustand eines Blattes durch dessen Wasserbedeckungsfaktor auszudrücken.

Literatur

ALBRECHT, F.: Die Methoden zur Bestimmung der Verdunstung der natürlichen Erdoberfläche. Arch. Meteor., Geophys. u. Biokl., Ser. B **2**, 1—38 (1950). — BRIGGS, L. J., and H. L. SHANTZ: Daily transpiration during the normal growth period and its correlation with the weather. J. Agric. Res. **7**, 155—213 (1916). — CURTIS, O. F., and D. G. CLARK: An introduction to plant physiology. New York-Toronto-London 1950. — DÖRFFEL, K., u. H. LETTAU: Der Wasserdampfübergang von einer nassen Platte an strömende Luft. Ann. Hydrograph. u. marit. Meteorol. **64**, 342—352, 504—510 (1936). — ECKERT, E.: Einführung in den Wärme- und Stoffaustausch. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1949. — FALCKENBERG, G.: Die Absorptionskonstanten einiger meteorologisch wichtiger Körper für infrarote Wellen. Meteor. Z. **45**, 334—337 (1928). — GÄUMANN, E., u. O. JAAG: Untersuchungen über die pflanzliche Transpiration. Ber. schweiz. bot. Ges. **45**, 411—518 (1936). — GEIGER, R.: Das Klima der bodennahen Luftschicht, 3. Aufl. Braunschweig 1950. HERTEL, W.: Beiträge zur Kenntnis maßhafter Beziehungen im Wasserhaushalt der Pflanzen. I. Untersuchungen über die Grundlagen der Meßmethodik und einige Meßergebnisse. Flora (Jena) **133**, 143—214 (1938). — HILPERT, R.: Wärmeabgabe von geheizten Drähten und Rohren im Luftstrom. Forsch. Geb. Ing.wesen **4**, 215 bis 224 (1933). — HOFMANN, G.: Die Thermodynamik der Taubildung. Ber. dtsch. Wetterdienst **3**, Nr 18, 45 S. (1955). — Verdunstung und Tau als Glieder des Wärmehaushaltes. Planta (Berl.) **47**, 303—322 (1956). — HUBER, B.: Der Wärmehaushalt der Pflanzen. Freising u. München 1935. — Die Temperatur pflanzlicher Oberflächen. Im Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 3, S. 285—292. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956. — KLEINSCHMIDT, E.: Handbuch der meteorologischen

Instrumente. Berlin 1935. — Landolt-Börnstein: Zahlenwerte und Funktionen, Bd. 3, Astronomie und Geophysik. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952. — Lettau, H.: Atmosphärische Turbulenz. Leipzig 1939. — Livingston, B. E.: The relation of desert plants to soil moisture and to evaporation. Carnegie Inst. Wash. Publ. **50** (1906). — Martin, E., and T. E. Clements: Studies of the effect of artificial wind on growth and transpiration in Helianthus annuus. Plant Physiol. **10**, 613—636 (1935). — Martin, E. V.: Studies of evaporation and transpiration under controlled conditions. Carnegie Inst. Wash. Publ. **550** (1943), 48 S. — Meyer, B. S., and D. B. Anderson: Plant Physiology. New York 1952. — Pisek, A., u. E. Berger: Kutikuläre Transpiration und Trockenresistenz isolierter Blätter und Sprosse. Planta (Berl.) **28**, 124—155 (1938). — Raschke, K.: Ein Verfahren der Transpirationsbestimmung an Blattpunkten, Blatteilen und ganzen Blättern in situ. Naturwiss. **41**, 308 (1954). — Mikrometeorologisch gemessene Energieumsätze eines Alocasiablattes. Arch. Meteor., Geophys. u. Biokl., Ser. B **7**, 240—268 (1956). — Schmidt, W.: Der Massenaustausch in freier Luft und verwandte Erscheinungen. In Probl. kosm. Physik, Bd. 7. Hamburg 1925. — Shull, C. A.: The mass factor in the energy relations of leaves. Plant Physiol. **5**, 279—282 (1930). — Stålfelt, M. G.: Der stomatäre Regulator in der pflanzlichen Transpiration. Planta (Berl.) **17**, 22—85 (1932). — Die stomatäre Transpiration und die Physiologie der Spaltöffnungen. Im Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 3, S. 351—426. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956. — Stocker, O.: Transpiration und Wasserhaushalt in verschiedenen Klimazonen. I. Untersuchungen an der arktischen Baumgrenze in Schwedisch-Lappland. Jb. wiss. Bot. **75**, 494—549 (1932). — Transpiration und Wasserhaushalt in verschiedenen Klimazonen. II. Untersuchungen in der ungarischen Alkalisteppe. Jb. wiss. Bot. **78**, 751—856 (1933). — Die Abhängigkeit der Transpiration von den Umweltfaktoren. Im Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 3, S. 436—488. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956. — Sutton, O. G.: Micrometeorology. New York-Toronto-London 1953. — Walter, H.: Die Verdunstung von Wasser in bewegter Luft und ihre Abhängigkeit von der Größe der Oberfläche. Z. Bot. **18**, 1—47 (1926).

Dr. K. Raschke, Berlin-Steglitz, Rothenburgstraße 12

Planta, Bd. 48, S. 239—265 (1956)

Institut für Forstbotanik, Eberswalde

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE PEROXYDASEN HÖHERER PILZE *

Von

HORST LYR

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. August 1956)

Trotz der umfangreichen Literatur über die Physiologie höherer Pilze ist über das Vorkommen und die Eigenschaften spezifischer Fermente noch recht wenig bekannt. Angaben in der älteren Literatur sind wegen der meist unzureichenden Versuchsmethodik nur bedingt verwertbar. Eingehendere Untersuchungen in dieser Richtung sind jedoch sehr wünschenswert, da sie Aufklärung über die physiologischen und ökologischen Besonderheiten der einzelnen Pilzarten zu erbringen versprechen.

Wie bereits beschrieben wurde (LYR, 1955), sind einige holzbewohnende Basidiomyceten zur Bildung von Peroxydasen (PO) befähigt. Diese Tatsache ist von besonderem Interesse, da über das Vorkommen dieses Fermentes bei höheren Pilzen bisher nichts Sicheres bekannt ist und außerdem diesem Ferment möglicherweise eine Bedeutung beim Ligninabbau zukommt. In der vorliegenden Arbeit sollen nun Einzelheiten über Vorkommen, Bildung und Eigenschaften dieser Pilzperoxydasen (PPO) mitgeteilt werden.

1. Vorkommen von Peroxydasen bei höheren Pilzen

BOSE und SARKAR studierten 1937 eine Reihe von Arten holzbewohnender Pilze im Hinblick auf ihre Fermentausstattung. Für einige Arten erwähnten sie das Vorkommen von Laccase, während Peroxydase nicht gefunden wurde.

GARREN gibt 1938 eine Zusammenstellung einiger bis dahin bei Holzzerstörern nachgewiesener Fermente, die auch Angaben über das Vorkommen von PO enthält. Danach soll das Ferment bei folgenden Arten vorkommen: *Polyporus abietinus* FR (nach GARREN), *Fomes fraxineus* COOKE (nach MONTGOMERY), *Armillaria mellea* FR, (nach SCHMITZ und ZELLER) und *Lenzites sepiaria* FR. (nach ZELLER). Die entsprechenden Literaturhinweise sind bei GARREN angegeben.

Von den angegebenen Arten konnte ich nur bei *Armillaria mellea* eine schwache PO-Bildung feststellen, was in Übereinstimmung mit den Befunden von LANPHERE (1934) steht, der ein Vorkommen dieses Fermentes in den Rhizomorphen des Hallimasch erwähnt. Von *Fomes fraxineus* stand mir keine Kultur zur Verfügung. Bei den übrigen Arten war keine PO nachweisbar. *Polyporus abietinus* — ein typischer Splintholzzerstörer der Kiefer — bildet reichlich Laccase, während nach meinen Untersuchungen bei *Lenzites sepiaria* weder PO noch Laccase vorkommen.

* Die vorliegende Arbeit ist ein Teil der Habilitationsschrift an der Math.-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Halle.

LAW (1950) erwähnt das Vorkommen von PO für einige Arten, macht aber keine näheren Angaben über das Nachweisverfahren. Anscheinend handelte es sich zum Teil um nichtenzymatische Effekte, da während des Reinigungsverfahrens die PO-Aktivität verschwand. Von den dort genannten Pilzarten konnte PO von mir nur bei *Phellinus robustus* nachgewiesen werden. *Polyporus gilvus*, der ebenfalls als PO-Bildner erwähnt wird, habe ich nicht untersucht.

Insgesamt kann man daher sagen, daß in der bisherigen Literatur kaum ein einziger Fall von PO-Bildung bei höheren Pilzen verläßlich beschrieben worden ist.

Bei meinen vergleichenden Untersuchungen zur Aufstellung eines Mycelbestimmungsschlüssels für Holzzerstörer war es daher überraschend, bei einigen Arten eine reichliche PO-Bildung anzutreffen. Die Untersuchungen erstreckten sich auf 154 Arten holzzerstörender und 28 Arten bodenbewohnender höherer Pilze. Insgesamt standen 490 Stämme zur Verfügung[1]. Reichliche PO-Produktion wurde bei 14 Arten festgestellt, während 3 weitere Arten nur eine schwache PO-Reaktion gaben. 75 Arten bildeten Laccase und 62 Arten Tyrosinase. Über die PO-Bildner gibt Tabelle 1 Auskunft.

Eine schwächere und nicht bei allen Stämmen konstante PO-Bildung konnte darüber hinaus bei *Armillaria mellea* FR., *Lentinus tigrinus* BULL. und *Gloeoporus (Polyporus) adustus* PIL. festgestellt werden[2]. Bei einigen weiteren Arten ist das Vorkommen des Fermentes noch unsicher.

Alle hier aufgeführten Arten rufen eine mehr oder weniger kräftige Weißfäule an dem von ihnen befallenen Holz hervor [vgl. CARTWRIGHT und FINDLAY (1942), LINDEBERG (1946), MEIER (1955), NOBLES (1948)].

Laccase und PO treten bei einigen Arten gemeinsam auf, wobei bei den hier genannten Arten Laccase auf 3%igem Malz-Agar nur in geringerer Menge gebildet wird. Das Vorkommen dieser Fermente wurde sowohl auf festen Nährböden als auch in Flüssigkeitskulturen festgestellt. Daß es sich hierbei um eine echte Laccase handelt und nicht um ein System von Peroxydase + Peroxyd, beweist die Tatsache, daß die Laccase-Aktivität auch nach Zusatz von Katalase erhalten bleibt, bei Abwesenheit von molekularem Sauerstoff aber nicht mehr nachweisbar ist.

Die PO der höheren Pilze wird von den hier genannten Arten reichlich in das Kulturmedium ausgeschieden und unterscheidet sich dadurch

[1] Ein kleinerer Teil der Sammlung stammte von Herrn Prof. LIESE. Davon befinden sich verschiedene Stämme schon seit etwa 20 Jahren in Kultur. Der größere Teil der Kulturen ist in den letzten Jahren von mir isoliert worden. Unterschiede in morphologischer und physiologischer Hinsicht ließen sich jedoch nicht feststellen. Eine Reihe von Instituten hat freundlicherweise darüber hinaus noch weitere Stämme zur Verfügung gestellt, wofür ich zu besonderem Dank verpflichtet bin. Bei fast allen Stämmen dürfte es sich um dikaryotische Mycelien handeln, da sie aus Fruchtkörper-Abimpfungen hervorgingen.

[2] In der Nomenklatur der Polyporaceen folge ich der Einteilung von KAVINA und PILAT (1942).

Tabelle 1. *Peroxydase-bildende höhere Pilze.* (Der Fermentnachweis erfolgte an 4—6 Wochen alten Kulturen auf 3%igem Malzextrakt)

Art	Zahl der untersuchten Stämme	Bevorzugte Holzarten	Splint	Kern	Tyrosinase	Laccase	Peroxydase
Inonotus (Polystictus) radiatus KARST.	2	Erle	0?	+	0	+	++
Inonotus (Polyporus) hispidus KARST.	2	Esche	0	+	+++	0	++
Phellinus (Fomes) igniarius QUÉLET	8	Pappel, Weide, Eiche, Robinie	+?	+	0	0	+++
Phellinus igniarius ssp. pomaceus QUÉLET(*Polyporus fulvus* SCOP.)	2	Apfel	0	+	0	0	+++
Phellinus (Trametes) pini PIL.	4	Kiefer, Douglasie	0	+	0	0	++
Phellinus (Fomes) robustus B. et G.	3	Eiche	+	+	0	+	+++
Phellinus (Polyporus) conchatus QUÉLET	2	Weide	+	+	++	+	+++
Polystictus tomentosus KARST.	2	Kiefer	0?	+	0	0	++
Polystictus tomentosus var. circinatus FR. *(Polyporus triqueter)*	3	Kiefer	0?	+	0	0	++
Leptoporus (Polyporus) spec.	2	Kiefer	+	+?	+	+	++
Ganoderma lucidum KARST.	3	Laubhölzer	?	+	0	0	+
Nematoloma sublateritium KARST.	6	Laubhölzer	+	+?	+++	+	++
Stereum spec.	1	Eiche	?	+	+	0	++
Weißfäuleerreger nicht identifiziert	1	Fichte	?	+	++	0	++
Phallus impudicus L.	3	Streuzersetzer	—	—	0	(+)	++
Mutinus caninus FR.	1	Stubbenzersetz.	—	—	0	++	++

von der PO der Bakterien und niederen Pilze. Sie gleicht in dieser Beziehung der Laccase und Cellulase [vgl. LINDEBERG und HOLM (1942), FAHRAEUS (1952), NORKRANS (1950)], die ebenfalls als Ektoenzyme auftreten.

Bei einigen Arten ließ sich auch Tyrosinase nachweisen. Über das angewandte Verfahren wird an anderer Stelle ausführlicher berichtet werden. Das Vorkommen von Tyrosinase zeigt keine Beziehung zu dem Auftreten von Laccase und Peroxydase. Das Ferment ist im wesentlichen ein Endoenzym und wird ebenso wie die Katalase kaum an die Kulturflüssigkeit abgegeben.

Andere Polyphenoloxydasen konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Für das Vorkommen einer besonderen Catecholase, wie sie YAKUSHIJI (1937) von *Octaviania columellifera* KOBAJ. beschrieben hat, fanden sich keine Anhaltspunkte. Trotz gewisser Unterschiede in der Wirkungsspezifität ist dieses Ferment wahrscheinlich mit der Tyrosinase anderer Pilze identisch.

2. Bildung von Peroxydase in Flüssigkeitskultur

Sämtliche 154 Arten waren in Flüssigkeitskultur qualitativ auf das Vorkommen von Oxydasen und Peroxydase untersucht worden. Für

einige PO-Bildner wurde die Ausscheidung dieses Fermentes auch quantitativ verfolgt. Es zeigte sich, daß die Fermentbildung ähnlich wie bei der Laccase [FAHRAEUS (1952), LINDEBERG u. FAHRAEUS (1952), FAHRAEUS u. LINDEBERG (1953)] von der Zusammensetzung des Nährmediums und einigen anderen Faktoren abhängig ist. Da die Untersuchungen über diesen Problemkreis noch nicht abgeschlossen sind, möchte ich hierauf nicht näher eingehen.

Als bester Nährboden für die Kultur holzzerstörender Pilze hat sich seit langem Malzextrakt bewährt. Dieser komplexe Nährboden erlaubt ein optimales Wachstum und eine reichliche Peroxydase-Bildung, weshalb er für weitere Versuche zunächst herangezogen wurde. Die Zusammensetzung des Malzextraktes stört eine quantitative Bestimmung der PO mit dem BAS-Test nicht. Auf synthetischen Nährböden — soweit sie bisher untersucht wurden — ist sowohl die Mycelbildung als auch die Fermentausscheidung geringer.

Die Pilze wurden in einer 3%igen Malzextrakt-Lösung in 100 ml Erlenmeyer-Kolben angezogen. Jeder Kolben erhielt 25 ml Nährlösung und bei den langsamwüchsigen Arten mehrere Impfstücke, um die Zeit bis zur Ausbildung einer größeren Mycelmenge zu verkürzen. Die Kulturen befanden sich in einem thermokonstanten Raum bei 20° C und schwachem Lampenlicht. Für die Auswertung verwendete ich zu jedem Termin jeweils 5 Kolben und faßte die erhaltenen Einzelwerte zu einem gemeinsamen Mittelwert zusammen. Trotz Einhaltung möglichst einheitlicher Bedingungen zeigten besonders die Werte junger Kulturen einige Schwankungen, die wahrscheinlich auf das etwas unterschiedliche Anwachsen der einzelnen Impfstücke zurückzuführen sind. Dadurch können einige Kolben einen Entwicklungsvorsprung erhalten, der schwer einzukalkulieren ist. Mit zunehmendem Alter der Kulturen glichen sich solche Unterschiede aus, und die Schwankungen wurden geringer.

Die Bestimmungen erstreckten sich auf folgende Größen: Gebildete Mycel-Trockensubstanz (TS), Zuckerverbrauch (in % Glucose ausgedrückt), p_H-Wert, r_H-Wert, Fermentaktivität.

Die Zuckerbestimmung erfolgte nach der Mikromethode von HAGEDORN-JENSEN, nachdem die Kulturflüssigkeit enteiweißt worden war (siehe KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse 1932). Die Malzlösung bzw. Kulturflüssigkeit wurde vor der Zuckertitration mit Salzsäure hydrolysiert, um die vorhandenen Di- und Polysaccharide zu spalten, und die gefundenen Reduktionswerte als % Glucose ausgedrückt. Sicherlich sind daneben noch andere Zucker vorhanden, was nicht weiter untersucht wurde.

Die Mycel-Trockensubstanz wurde nach Abspülen der Kulturflüssigkeit und Trocknung bei 105° bis zur Gewichtskonstanz in der üblichen Weise ermittelt.

Die Bestimmung des p_H-Wertes erfolgte mit einer Glaselektrode von Schott und Gen. Ebenso wie bei der Messung des r_H-Wertes diente eine gesättigte Kalomelelektrode als Bezugselektrode. Der r_H-Wert wurde mittels einer blanken Platinelektrode im Stickstoffstrom gemessen. Nach einem Durchleiten des Stickstoffes von etwa 10 min hatte sich ein gleichbleibendes Potential eingestellt, das in mV an einem RFT-Röhrenvoltmeter abgelesen wurde. Um einen Vergleich der einzelnen Arten zu ermöglichen, rechnete ich die gefundenen mV-Werte nach dem von KALAUCH (1954) angegebenen Verfahren auf r_H-Einheiten um. Obwohl die Abhängigkeit des Potentials vom p_H-Wert nicht experimentell untersucht ist, erschien

für den vorliegenden Zweck eine so vereinfachte Umrechnung auf r_H-Werte hinreichend genau.

Die Bestimmung der Peroxydase-Aktivität erfolgte nach einem neu entwickelten Verfahren — dem sog. BAS-Test — mit Hilfe von Benzidin und Ascorbinsäure (AS). Das Prinzip ist folgendes: In einem Reagensglas werden 1 ml Ascorbinsäure von bekannter Konzentration, 1 ml Acetatpuffer, in dem eine bestimmte Benzidinmenge enthalten ist, und 1 ml Fermentlösung gemischt. Zum Reaktionsbeginn wird 1 ml Hydroperoxydlösung zugesetzt und mit Hilfe einer Stoppuhr die Zeit gemessen, die zur völligen Oxydation der AS benötigt wird. Der Endpunkt ist an dem Auftreten der blauen Farbe der Oxydationsprodukte des Benzidins zu erkennen. Für das Verfahren wurden besondere Standardbedingungen ausgearbeitet, die ich zusammen mit weiteren Einzelheiten der Publikation Lyr 1957 zu entnehmen bitte.

In Abweichung von den Standardbedingungen verwendete ich allerdings eine Benzidin-Endkonzentration von 0,01%, so daß die erhaltenen Aktivitätswerte um etwa $^1/_6$ höher als unter Standardbedingungen liegen. Die Aktivität ist in mg oxydierter Ascorbinsäure je sec ausgedrückt und bezieht sich jeweils auf 1 ml Kulturfiltrat. Von *Phellinus robustus* bestimmte ich sowohl die Peroxydase- als auch die Laccase-Aktivität, wobei für erstere die Messungen im Stickstoffstrom erfolgten. Da die Laccase-Aktivität ziemlich gering war, mußte sie in der Darstellung gegenüber der PO-Aktivität etwas überhöht werden. Die Werte sind in diesem Fall mit 10^{-5} zu multiplizieren (Abb. 4).

Zu beachten ist ferner, daß bei den einzelnen Arten für die Trockensubstanzbildung und die PO-Aktivität der besseren Darstellung wegen ein unterschiedlicher Maßstab gewählt worden ist.

Die Ergebnisse sind für die einzelnen Arten in den Abb. 1—4 dargestellt.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf einen Zeitraum von insgesamt 65 Tagen. Bei allen Arten begann das Mycelgewicht nach etwa 50 Tagen abzunehmen, was durch das Überwiegen autolytischer Prozesse nach völligem Zuckerverbrauch erklärt werden kann. Die größte Menge an Mycel-Trockensubstanz bildete *Ph. robustus*. Ihm folgen mit Abstand *Ph. pini*, *Nematoloma sublateritium* und *Ph. igniarius*. Letzterer hatte gerade in dieser Versuchsserie relativ wenig Mycelmasse entwickelt, was besonders für das Luftmycel gilt. Eine Erklärung hierfür läßt sich nicht angeben.

Der durch Titration ermittelte Anfangszuckergehalt betrug 2,88% „Glucose". Wie aus den Darstellungen zu ersehen ist, nehmen die Werte rasch ab, was sicher durch den starken Zuckerverbrauch des in gleichem Maße heranwachsenden Mycels bedingt ist. Zwischen 30 und 40 Tagen beginnen die „Glucose"-Werte jedoch bei allen Arten merkwürdigerweise wieder anzusteigen. Es ist klar, daß es sich dabei nicht um einen Anstieg der Zuckermenge handeln kann, sondern eine Bildung reduzierender Substanzen vorliegen muß. Mit der Molisch-Reaktion war nach 40 Tagen stets noch Zucker nachweisbar. Die angewandte Bestimmungsmethode nach Hagedorn-Jensen ist zwar relativ unempfindlich gegen Begleitstoffe, aber nicht spezifisch für Zucker. Sie erfaßt — wie fast alle für die Zuckerbestimmung gebräuchlichen Verfahren —

auch andere reduzierende Substanzen. Bestimmungen nach der Methode von WILLSTÄTTER u. SCHUDEL zeigten den gleichen Anstieg der Reduk-

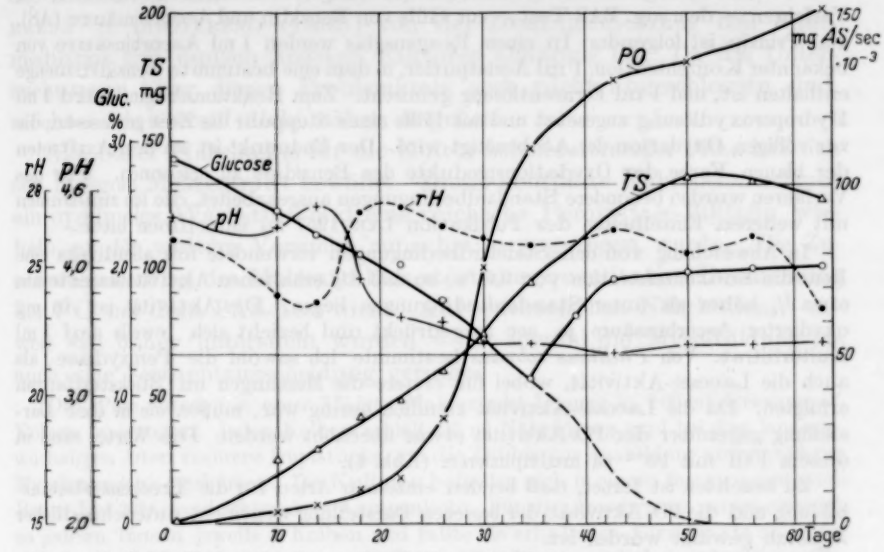

Abb. 1. Zeitlicher Verlauf der Peroxydase-Bildung bei *Phellinus igniarius*. *PO* Peroxydase-Aktivität von je 1 ml Kulturflüssigkeit, *TS* Mycel-Trockensubstanz in mg je Kolben

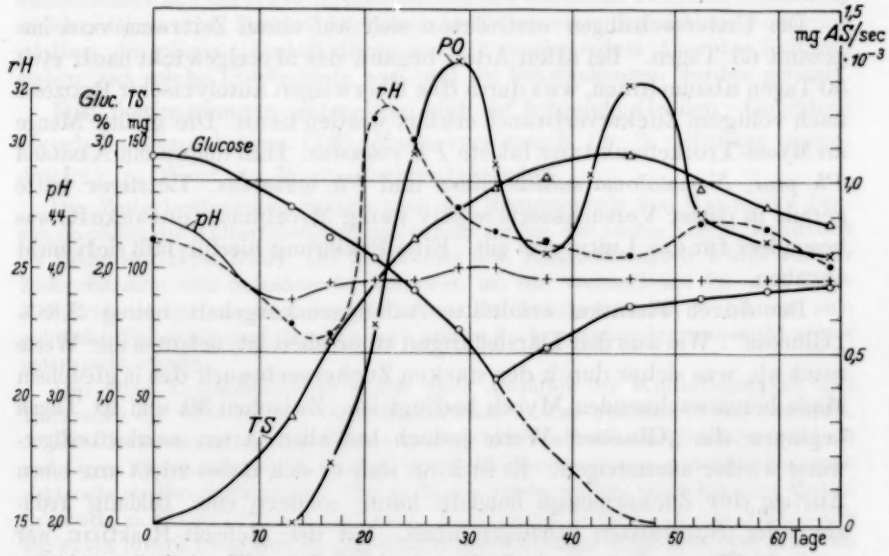

Abb. 2. Zeitlicher Verlauf der Peroxydase-Bildung bei *Nematoloma sublateritium*

tionswerte. Da mit Sicherheit anzunehmen ist, daß der Zuckergehalt weiter abnimmt, habe ich den vermutlichen Verlauf des Zucker-

verbrauches durch die gestrichelt gezeichnete Kurve angedeutet. Wie in den Darstellungen gut zum Ausdruck kommt, fällt der Zeitpunkt des

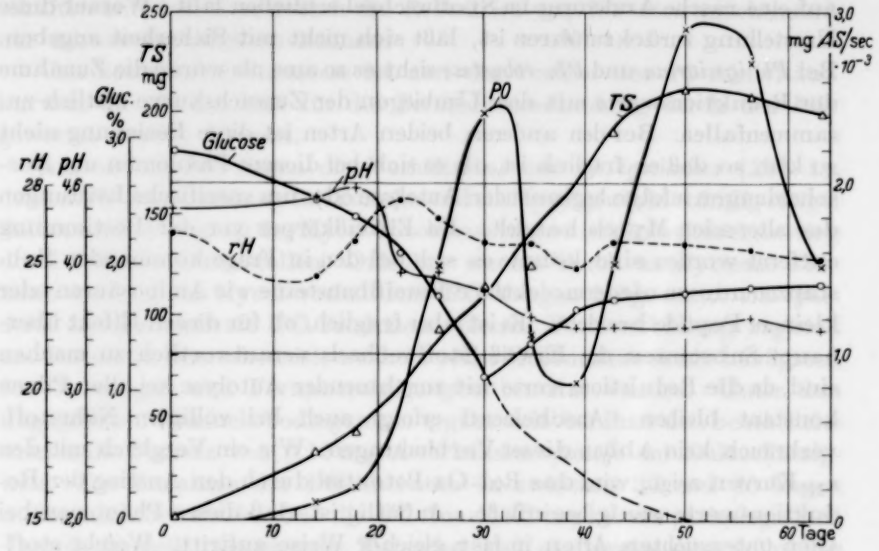

Abb. 3. Zeitlicher Verlauf der Peroxydase-Bildung bei *Phellinus pini*

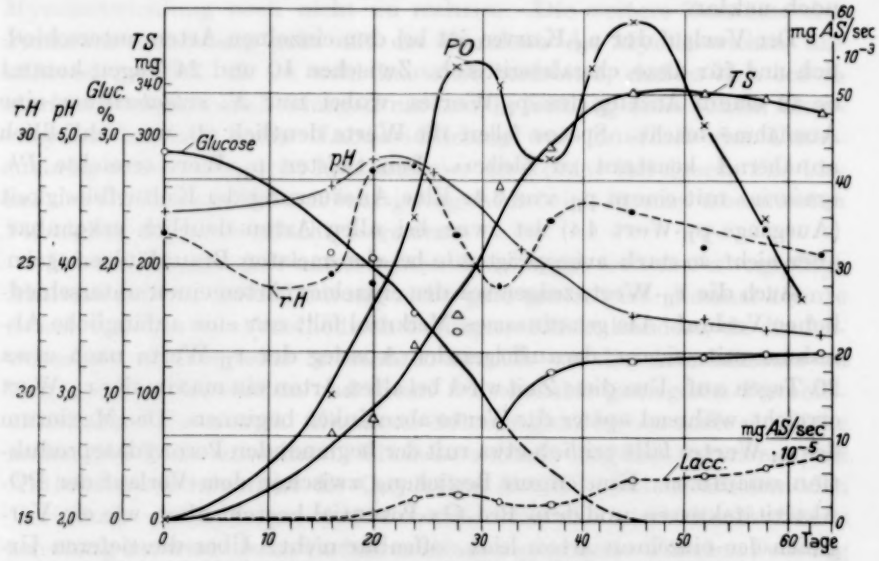

Abb. 4. Zeitlicher Verlauf der Peroxydase- und Laccase-Bildung bei *Phellinus robustus*

völligen Verbrauches an Zucker mit dem Rückgang des Mycel-Trockengewichtes zusammen. Aus dem scharfen Knick in der Zuckertitrations-

kurve zwischen 30 und 40 Tagen ist der Schluß zu ziehen, daß diese reduzierenden Substanzen ziemlich plötzlich ausgeschieden werden, was auf eine rasche Änderung im Stoffwechsel schließen läßt. Worauf diese Umstellung zurückzuführen ist, läßt sich nicht mit Sicherheit angeben. Bei *Ph. igniarius* und *Ph. robustus* sieht es so aus, als würde die Zunahme der Reduktionswerte mit dem Umbiegen der Zuwachskurve zeitlich zusammenfallen. Bei den anderen beiden Arten ist diese Beziehung nicht so klar, so daß es fraglich ist, ob es sich bei diesem Phänomen um Ausscheidungen infolge beginnender Autolyse oder um spezifische Leistungen des alternden Mycels handelt. Da Eiweißkörper vor der Bestimmung entfernt worden sind, könnte es sich bei den in Frage kommenden Substanzen nur um niedermolekulare Eiweißbausteine wie Aminosäuren oder kleinere Peptide handeln. Es ist aber fraglich, ob für diesen Effekt überhaupt Substanzen des Eiweiß-Stoffwechsels verantwortlich zu machen sind, da die Reduktionswerte mit zunehmender Autolyse bei allen Pilzen konstant bleiben. Anscheinend erfolgt auch bei völligem Nährstoffverbrauch kein Abbau dieser Verbindungen. Wie ein Vergleich mit den r_H-Kurven zeigt, wird das Red-Ox-Potential durch den Anstieg der Reduktionswerte wenig beeinflußt. Auffällig ist, daß dieses Phänomen bei allen untersuchten Arten in fast gleicher Weise auftritt. Welche stoffwechselphysiologischen Hintergründe dieser Effekt hat, ist vorläufig noch unklar.

Der Verlauf der p_H-Kurven ist bei den einzelnen Arten unterschiedlich und für diese charakteristisch. Zwischen 10 und 24 Tagen kommt es zu einem Anstieg des p_H-Wertes, wobei nur *N. sublateritium* eine Ausnahme macht. Später fallen die Werte deutlich ab, um schließlich annähernd konstant zu bleiben. Den tiefsten p_H-Wert erreichte *Ph. igniarius* mit einem p_H von 3,4. Eine Ansäuerung der Kulturflüssigkeit (Ausgangs-p_H-Wert 4,4) ist zwar bei allen Arten deutlich erkennbar, aber nicht so stark ausgeprägt wie bei den meisten Braunfäuleerregern.

Auch die r_H-Werte zeigen bei den einzelnen Arten einen unterschiedlichen Verlauf. Als gemeinsames Merkmal fällt nur eine anfängliche Abnahme mit einem darauffolgenden Anstieg der r_H-Werte nach etwa 20 Tagen auf. Um diese Zeit wird bei allen Arten ein maximaler r_H-Wert erreicht, während später die Werte abzusinken beginnen. Das Maximum des r_H-Wertes fällt zeitlich etwa mit der beginnenden Peroxydaseproduktion zusammen. Eine engere Beziehung zwischen dem Verlauf der PO-Aktivitätskurven und dem Red-Ox-Potential besteht aber, wie ein Vergleich der einzelnen Arten lehrt, offenbar nicht. Über die tieferen Ursachen der Schwankungen des Red-Ox-Potentials lassen sich zur Zeit keine näheren Angaben machen, da die stoffwechselphysiologischen Leistungen der Pilze in den einzelnen Entwicklungsphasen zu wenig bekannt sind. Bemerkenswert ist jedoch, daß die r_H-Werte allgemein

recht hoch liegen. Das stimmt mit anderen eigenen Beobachtungen überein, wonach die meisten Holzzerstörer kaum reduzierende Eigenschaften entwickeln und auch die Reduktion von Nitraten anscheinend nur schwer durchführen können.

Von besonderem Interesse ist nun der Verlauf der PO-Aktivitätskurven, die als ein Maß für die Fermentausscheidung durch den Pilz gewertet werden können.

Am einfachsten liegen die Verhältnisse bei *Ph. igniarius* (Abb. 1), dessen PO-Ausscheidung mit zunehmendem Mycelgewicht ständig steigt. Selbst nach Rückgang der Mycel-Trockensubstanz ist ein weiterer Anstieg der PO-Werte festzustellen. Offenbar werden durch autolytische Prozesse weitere, im Mycel vorhandene PO-Mengen freigesetzt. *Ph. igniarius* ist der aktivste PO-Produzent, dessen Fermentbildung zugleich am besten zu übersehen ist, weshalb seine Kulturfiltrate am häufigsten für Messungen und Fermentreinigungen benutzt wurden. Unter den angegebenen Versuchsbedingungen ergibt sich bei ihm der beachtliche maximale Umsatz von 0,15 mg Ascorbinsäure/sec je ml Kulturflüssigkeit. Die Zunahme der PO-Aktivität ist zwischen 30 und 40 Tagen außerordentlich stark. Daß die PO-Ausscheidung keinen pathologischen Prozeß darstellt, beweist die Tatsache, daß sie bereits sehr frühzeitig beginnt. Mit autolytischen Prozessen ist in den Anfangsstadien der Mycelentwicklung noch nicht zu rechnen. Die weitere Zunahme der Fermentausscheidung geht mit der Zunahme des Mycelgewichtes annähernd parallel. Es ist wohl kaum zu bestreiten, daß es sich bei so starken Fermentausscheidungen nur um die Bildung eines echten Ektoenzymes handeln kann. Laccase-Bildung war innerhalb des Untersuchungszeitraumes nicht festzustellen. Sie konnte bei diesem Pilz bisher nur ein einziges Mal mit sehr geringer Aktivität in einer überalterten Flüssigkeitskultur beobachtet werden.

Bei den übrigen drei untersuchten Arten ergab sich eine zweigipflige Aktivitätskurve, deren Deutung nicht ganz einfach ist. Einmal könnte es sich nur um einen methodisch bedingten Effekt handeln, da die Anwesenheit reduzierender Substanzen ähnlich wie die Ascorbinsäure zu längeren Reaktionszeiten und damit zu scheinbar geringeren Fermentaktivitäten führen muß. Mit dieser Schwierigkeit haben auch sämtliche andere PO-Teste zu rechnen. Sie ließe sich nur umgehen, wenn man als Aktivitätsmaßstab nicht die Oxydation des H-Donators, sondern den Verbrauch an Hydroperoxyd benutzte. Da das methodisch oftmals schwierig ist, wird dieses Verfahren selten angewandt. Für eine Deutung der Aktivitätsabnahme infolge des Vorhandenseins reduzierender Substanzen könnte evtl. die Tatsache sprechen, daß der Rückgang der Aktivität etwa zur gleichen Zeit wie der Anstieg der Reduktionswerte („Glucose"-Werte) erfolgt. Bei genauerer Betrachtung des Kurven-

verlaufes von *Ph. robustus* und *N. sublateritium* fällt jedoch auf, daß die Aktivität bereits zu einem Zeitpunkt abnimmt, wo die Reduktionswerte noch ein Minimum aufweisen. Bei *Ph. igniarius* wirken sich die Änderungen der Reduktionswerte überhaupt nicht auf die PO-Aktivität aus. Auch der Verlauf der r_H-Kurven ist durch den Aktivitätsabfall unbeeinflußt. Ich halte daher die Möglichkeit, daß die Zweigipfligkeit der Kurven nur durch die angewandte Methode bedingt ist, für wenig wahrscheinlich. Wenn reduzierende Stoffe den Zeitpunkt des Farbumschlages hinausschieben sollten, so müßte sich auch ohne AS-Zusatz eine Verzögerung des Auftretens der Farbe des oxydierten Benzidins bemerkbar machen, was jedoch niemals beobachtet worden ist.

Die andere Erklärungsmöglichkeit besteht in der Annahme, daß die Fermentproduktion in einem bestimmten Entwicklungsstadium nachläßt und ein Teil des ausgeschiedenen Fermentes wieder aufgenommen und anderweitig verwertet oder zerstört wird. Der Fermentspiegel in der Kulturflüssigkeit müßte danach durch eine Gleichgewichtslage zwischen Synthese und Abbau bestimmt werden, was auch sehr wahrscheinlich ist. Der erste Anstieg der Fermentbildung entspricht der Zunahme des Mycelgewichtes. Ein Abfall der Fermentaktivität ist etwa zu dem Zeitpunkt des Umbiegens der Zuwachskurven zu verzeichnen. Offenbar wird die Fermentsynthese eingeschränkt, sobald sich ein Mangel an Atmungsmaterial bemerkbar macht. Mit einer weiteren Zunahme der autolytischen Prozesse kommt es dann jedoch zu einem zweiten Anstieg der PO-Werte, wobei bei *Ph. robustus* und *Ph. pini* die Aktivität ein Maximum erreicht. Möglicherweise handelt es sich hierbei um eine Freisetzung intracellulärer PO-Mengen. Gewisse Beobachtungen an anderen Arten deuten jedoch auch die Möglichkeit an, daß eine engere Beziehung zwischen Zuckerstoffwechsel und Fermentsynthese besteht.

Dafür könnte auch die Tatsache sprechen, daß der Abfall der Fermentaktivität mit dem Zeitpunkt des völligen Zuckerverbrauches zusammenfällt. Mit fortschreitender Autolyse nimmt die Fermentmenge wiederum ab, da vermutlich die Fermentbausteine von dem hungernden Mycel teilweise noch verwertet werden können.

Die Fermentaktivitäten sind bei den übrigen drei Arten geringer als bei *Ph. igniarius*. Ziemlich reichlich scheidet noch *Ph. robustus* Peroxydase aus. Er bildet daneben geringe Laccasemengen, deren Aktivität keinen so deutlichen Einbruch wie bei der PO erkennen läßt, sondern fortlaufend — selbst bei beginnender Autolyse — ansteigt.

Auch *N. sublateritium* bildete kleine Mengen an Laccase, die zwar nachweisbar, aber nicht mit Sicherheit quantitativ meßbar waren. Bei den anderen Arten konnte eine Laccasebildung nicht festgestellt werden.

Der zeitliche Verlauf der PO-Ausscheidung bei den untersuchten Arten dürfte beweisen, daß es sich um einen normalen physiologischen

Prozeß handelt. Die ausgeschiedenen Mengen sind so beachtlich, daß man eine physiologische Bedeutung dieser Ausscheidung annehmen muß. Wenngleich verläßliche Angaben über Fermentausscheidungen durch höhere Pilze bisher recht spärlich sind, kann man doch erwarten, daß solche Fermente, die ihre Funktion innerhalb der Zelle verrichten, nicht in stärkerem Maße ausgeschieden werden. Das würde für den Pilz einen unökonomischen Substanzverlust bedeuten, zumal für Holzzerstörer und bodenbewohnende höhere Pilze Stickstoffverbindungen nur in begrenztem Maße zugänglich sind. Zwar sind die Hyphen offensichtlich auch für große Moleküle gut durchlässig, jedoch könnte eine unerwünschte Ausscheidung durch strukturelle Bindung der einzelnen Fermente an das Plasma der Hyphenzellen verhindert werden. Das scheint bei Katalase und Tyrosinase der Fall zu sein, die teilweise reichlich in den Hyphen vorhanden sind, jedoch nicht an die Kulturflüssigkeit abgegeben werden.

Auch in natürlich zersetztem, weißfaulem Holz konnte PO für verschiedene Arten nachgewiesen werden. Mit Hilfe des Benzidin-Testes gelang ein Nachweis bei stark durch *N. sublateritium* zersetztem Laubholz, bei weißfaulem durch *Ph. robustus* angegriffenem Eichenholz sowie bei Douglasienkernholz, das durch *Ph. pini* zersetzt worden war. Bei letzterem gaben vor allem die weißlichen Pusteln, die für einen Abbau durch den Kiefernbaumschwamm charakteristisch sind, schwache PO-Reaktion.

Es ist daher nicht zweifelhaft, daß die Peroxydase auch während des natürlichen Abbaues des Holzes durch diese Pilze auftritt. Eingehendere quantitative Untersuchungen sind hierüber noch im Gange.

3. Einige Eigenschaften der Pilzperoxydasen

Da bisher von pflanzlichen Peroxydasen fast ausschließlich die Meerrettich-Peroxydase (MPO) untersucht worden ist, war es von Interesse, einige Eigenschaften der Pilzperoxydasen (PPO) kennenzulernen und sie mit denen der MPO zu vergleichen.

Wirkung von Äthanol auf die Fermentaktivität

Da Benzidin bei höheren p_H-Werten nur in geringer Menge in n/10 Acetatpuffer löslich ist, wurde für manche Zwecke dem Puffer Äthanol zugesetzt, wodurch mehr Benzidin gelöst werden kann. Um den Einfluß des Alkohols auf die Fermentaktivität kennenzulernen, wurde eine Versuchsreihe angesetzt, bei der die Reaktionsmischung die in Abb. 5 angegebenen Alkoholendkonzentrationen enthielt. Die erhaltenen Aktivitätswerte wurden für jede Alkoholkonzentration als Prozent einer Kontrolle ohne Alkoholzusatz berechnet. Aus Abb. 5 ist zu ersehen, daß sowohl die MPO als auch die PO von *Ph. igniarius* durch steigende Alkoholkonzentrationen gehemmt werden. Der Abfall der Ferment-

aktivität ist bei beiden Präparaten fast gleich. Das Ferment von *Ph. igniarius* (verwendet als ungereinigtes Kulturfiltrat) unterscheidet sich von der MPO nur dadurch, daß es bereits bei geringen Alkoholkonzentrationen (4%) eine stärkere Aktivitätsabnahme zeigt. Bei Alkoholendkonzentrationen über 50% ist bei beiden Fermentherkünften die Aktivität praktisch erloschen.

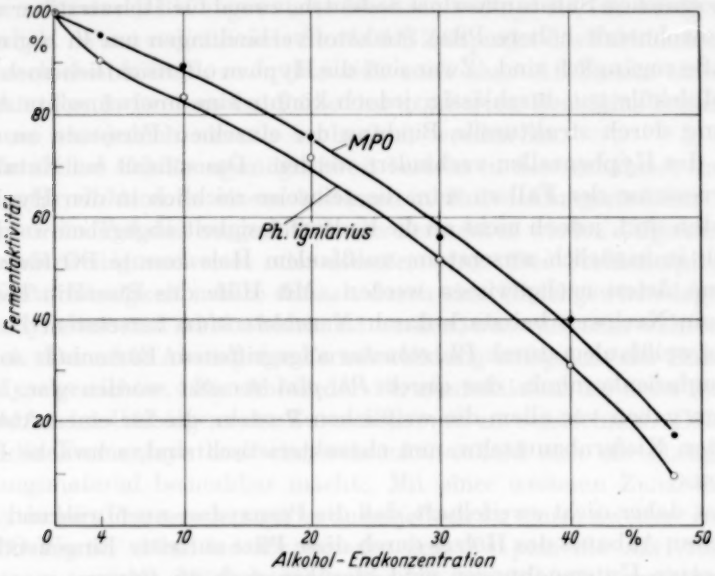

Abb. 5. Einfluß von Äthanol auf die Fermentaktivität. Reaktionsbedingungen: 25° C, n/10 Acetatpuffer p_H 4,4, 3 mg H_2O_2, Benzidin-Endkonzentration 0,017 %.

Einfluß des p_H-Wertes auf die Fermentaktivität

Für die praktische Durchführung der Aktivitätsmessungen sowie für ein Studium des physiologischen Wirkungsbereiches der Peroxydasen war eine Feststellung der p_H-Optima der einzelnen Fermentpräparate erforderlich. Für die Pilzfermente wurden hierzu die ungereinigten Kulturflüssigkeiten benutzt, da es darauf ankam, die Wirkung der Fermente unter möglichst physiologischen Bedingungen kennenzulernen. Von der MPO verwendete ich ein halbgereinigtes Präparat, das nach dem von KEILIN u. HARTREE (1951) angegebenen Verfahren hergestellt worden war.

Durch eine Alkoholkonzentration von 4% in der Reaktionsmischung konnte die Benzidinkonzentration bei allen p_H-Stufen auf 0,025% (Endkonzentration) gehalten werden. Diese Konzentration ist für den optimalen p_H-Bereich der Fermente wahrscheinlich ziemlich hoch, wie bei der Besprechung des BAS-Testes (LYR 1957) bereits ausgeführt wurde. Der damit verbundene mögliche Fehler könnte eine Verflachung

des Kurvenverlaufes zur Folge haben, da bei optimalen p_H-Werten die Reaktionsgeschwindigkeit nicht mehr proportional der Benzidinkonzentration zunimmt. Mit einer wesentlichen Verschiebung der p_H-Optima ist jedoch nicht zu rechnen.

Wie aus Abb. 6 zu ersehen ist, liegt das p_H-Optimum der untersuchten Peroxydasen zwischen p_H 5,0 und 6,3. Besonders *Ph. pini* weist ein nach dem neutralen Gebiet verschobenes Wirkungsoptimum auf.

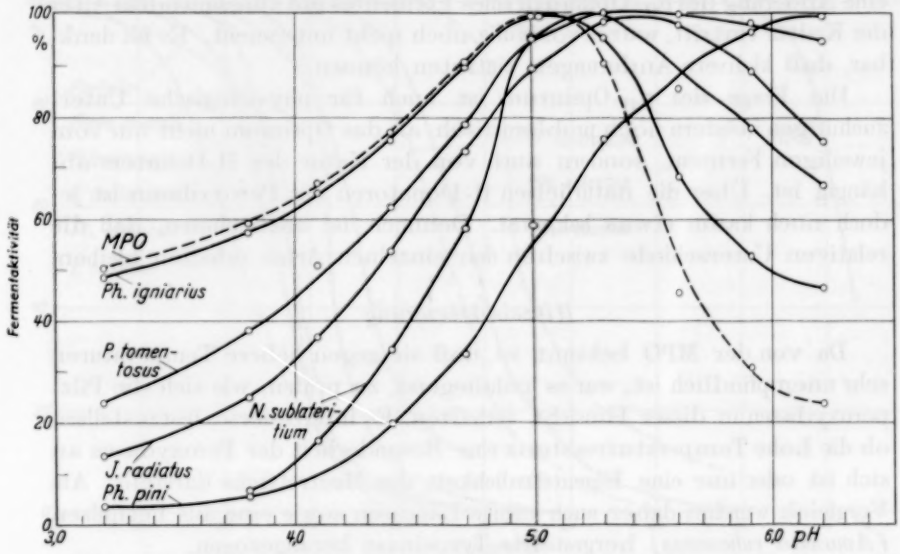

Abb. 6. Einfluß des p_H-Wertes auf die Aktivität verschiedener Peroxydasen. Reaktionsbedingungen: 25° C, 3 mg H_2O_2, Benzidin-Endkonzentration 0,025 %, n/10 Acetatpuffer mit Alkoholzusatz (Alkoholendkonzentration 4%)

MPO hat unter diesen Bedingungen ihre optimale Aktivität bei p_H 5,0. In dem Verlauf der Aktivitätskurve gleicht ihr am meisten das Fermentpräparat von *Ph. igniarius*. Wie aus der Zusammenstellung bei ZEILE hervorgeht, liegt das Optimum pflanzlicher Peroxydasen auch bei Verwendung anderer H-Donatoren (Kresol, Guajacol, Hydrochinon) etwa bei p_H 5,0—5,3. Eine Ausnahme macht nur das Pyrogallol mit seinem weit in den alkalischen Bereich verschobenen Optimum. Der Abfall der Fermentaktivität mit Änderung des p_H-Wertes ist für Kresol und Hydrochinon in der Darstellung von ZEILE etwas weniger ausgeprägt als in meinen Versuchen, während PURR (1950a), der ebenfalls eine optimale Aktivität bei p_H 5,0 feststellte, einen noch steileren Abfall angibt. Wie oben bereits kurz erwähnt, kann jedoch der Abfall der Kurven von den Testbedingungen beeinflußt werden, so daß ein Vergleich der unter verschiedenen Bedingungen ermittelten Kurven nicht ohne weiteres möglich ist.

Aus Abb. 6 ist deutlich zu erkennen, daß die einzelnen Fermente durch niedrige p_H-Werte unterschiedlich stark gehemmt werden. Besonders stark ist die Aktivitätsabnahme bei *Ph. pini* und *N. sublateritium*.

Wie ein Vergleich der p_H-Optima der einzelnen Fermente mit den p_H-Werten der Kulturflüssigkeiten (Abb. 1—4) zeigt, besteht keine Übereinstimmung zwischen diesen beiden Größen. Für die Untersuchungen waren Filtrate von etwa 40 Tage alten Kulturen benutzt worden. Ob eine Änderung des p_H-Optimum eines Fermentes mit zunehmendem Alter der Kultur eintritt, wurde vorläufig noch nicht untersucht. Es ist denkbar, daß kleinere Änderungen eintreten können.

Die Frage des p_H-Optimum ist auch für physiologische Untersuchungen insofern noch problematisch, als das Optimum nicht nur vom jeweiligen Ferment, sondern auch von der Natur des H-Donators abhängig ist. Über die natürlichen H-Donatoren der Peroxydasen ist jedoch noch kaum etwas bekannt. Dennoch ist anzunehmen, daß die relativen Unterschiede zwischen den einzelnen Arten erhalten bleiben.

Hitzeinaktivierung

Da von der MPO bekannt ist, daß sie gegen höhere Temperaturen sehr unempfindlich ist, war es naheliegend, zu prüfen, wie sich die Pilzperoxydasen in dieser Hinsicht verhalten. Es interessierte, festzustellen, ob die hohe Temperaturresistenz eine Besonderheit der Peroxydasen an sich ist oder nur eine Eigentümlichkeit des Meerrettichs darstellt. Als Vergleich wurden daher auch einige Laccasen sowie eine aus Perlpilzen *(Amanita rubescens)* hergestellte Tyrosinase herangezogen.

Die Methodik war folgende: Je 1 ml der zu untersuchenden Fermentlösungen wurde für 5 min den in Abb. 7 angegebenen Temperaturen ausgesetzt, die ein Ultrathermostat konstant hielt. Nach Ablauf dieser Zeit wurde rasch auf Zimmertemperatur abgekühlt. Zum Reaktionsbeginn versetzte ich die so behandelten Fermentlösungen mit 2 ml 10^{-2} molarer Brenzkatechin-Lösung und 1 ml Aqua dest. (bei Oxydasen) bzw. 1 ml 0,03%iger Hydroperoxyd-Lösung (bei Peroxydase). Der Grad der eintretenden Verfärbung wurde nach Ablauf einer Reaktionszeit von etwa 1—2 Std im Pulfrich-Photometer (Filter S 47) gemessen, wobei als Vergleichslösung der gleiche Ansatz, aber mit völlig inaktivierter Fermentlösung diente. Die erhaltenen Werte sind in der Darstellung in Prozent der Verfärbung einer nicht erhitzten Kontrolle aufgetragen. Brenzkatechin wählte ich als H-Donator, weil es von allen Fermenten oxydiert wird. Die Verwendung anderer H-Donatoren lieferte gleiche Ergebnisse. Wenn das Verfahren auch nur als halbquantitativ bezeichnet werden kann, so erwies es sich doch für diesen Zweck als durchaus geeignet und hinreichend genau.

Es bestätigte sich die große Thermostabilität der MPO, die erst nach 5 min Einwirkung von 97° C zur Hälfte inaktiviert wird. Sie ist damit mit Abstand das hitzeunempfindlichste aller geprüften Fermente. Die Pilzperoxydasen sind demgegenüber wesentlich empfindlicher und werden bei den untersuchten Arten in einem Bereich von etwa 63—74°

innerhalb von 5 min zur Hälfte inaktiviert. Der gleiche Bereich der Laccasen erstreckt sich von etwa 61—77° C, zeigt also gegenüber den PPO keinen bemerkenswerten Unterschied. In dem einzigen darauf geprüften Fall erwies sich im Gegenteil die Laccase von *Ph. robustus* als temperaturbeständiger als die Peroxydase des gleichen Pilzes. Wie aus Abb. 7 zu ersehen ist, haben die Fermente der einzelnen Arten eine unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit. Während beispiels-

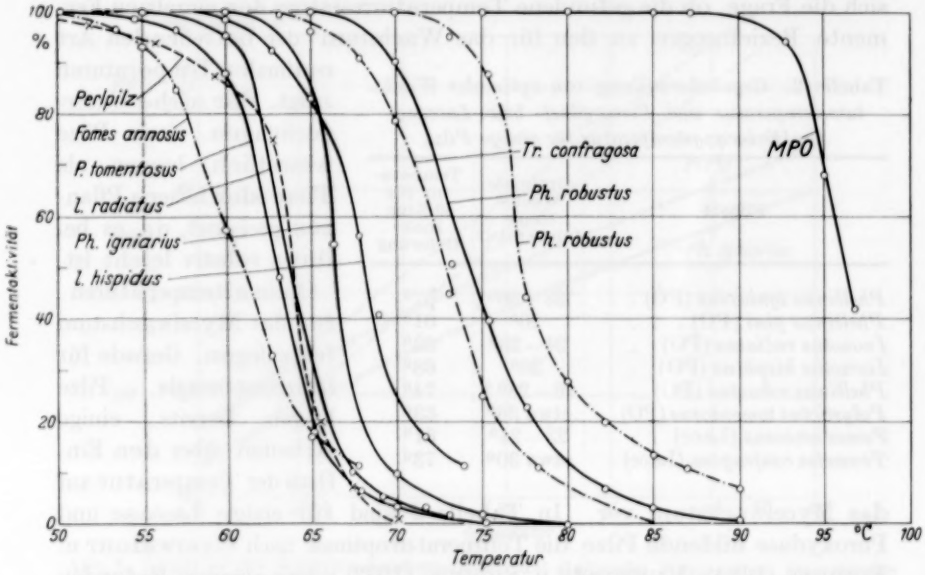

Abb. 7. Hitzeinaktivierung verschiedener Peroxydasen, Laccasen sowie einer Tyrosinase. Einwirkungsdauer der höheren Temperaturen 5 min. o——o Peroxydasen, o — · — · o Laccasen, × — — — × Tyrosinase

weise die Laccase von *Ph. robustus* sehr beständig ist, wird die Laccase von *Fomes annosus* sehr rasch inaktiviert. Sie ist empfindlicher als die Tyrosinase des Perlpilzes *(Amanita rubescens)*, obwohl die Tyrosinase im allgemeinen als hitzeempfindlich gilt. In unseren Versuchen glich die Inaktivierungskurve der Perlpilz-Tyrosinase etwa den Kurven der Peroxydasen von *Inonotus radiatus* und *Polystictus tomentosus*. Man muß daraus den Schluß ziehen, daß ein Vergleich der Temperaturempfindlichkeit verschiedener Fermente streng genommen nur innerhalb einer Art möglich ist. Für die Hitzeempfindlichkeit eines Fermentes ist in erster Linie der Eiweißbestandteil verantwortlich, der offensichtlich artspezifische Unterschiede zeigt. Die erstaunlich große Unempfindlichkeit der MPO ist demnach keine Besonderheit der Peroxydase, sondern eine Eigenart der Meerrettichwurzel.

Eine Reaktivierung der Peroxydase-Präparate konnte innerhalb von 24 Std nicht beobachtet werden. Nach Purr (1950b) soll dieser

Effekt durch Beimischungen von Cytochrom-c bedingt sein, das er in nicht zulässiger Weise auch als „Cytochrom-c-Peroxydase" bezeichnet. Falls dadurch das Phänomen der Reaktivierung von Peroxydase-Präparaten höherer Pflanzen (vgl. GALLAGHER) ausschließlich bedingt ist, wäre der Schluß erlaubt, daß in der Kulturflüssigkeit der untersuchten Pilze keine nennenswerten Mengen von Cytochrom-c vorhanden sind.

Im Zusammenhang mit der Hitzeinaktivierung der Fermente erhebt sich die Frage, ob die gefundene Temperaturresistenz der einzelnen Fermente Beziehungen zu den für das Wachstum der betreffenden Art optimalen Temperaturen zeigt. Für solche Untersuchungen sind Pilze wesentlich besser als Tiere oder höhere Pflanzen geeignet, da es bei ihnen relativ leicht ist, Optimaltemperaturen für das Mycelwachstum festzulegen. Gerade für holzzerstörende Pilze liegen bereits einige Arbeiten über den Einfluß der Temperatur auf das Mycelwachstum vor. In Tabelle 2 sind für einige Laccase und Peroxydase bildende Pilze die Temperaturoptima nach CARTWRIGHT u. FINDLAY (1934), HUMPHREY u. SIGGERS (1933) sowie eigenen Befunden zusammengestellt und mit den Temperaturen verglichen, die nach 5 min Einwirkung eine Verminderung der Fermentaktivität auf die Hälfte bewirkten.

Tabelle 2. *Gegenüberstellung von optimaler Wachstumstemperatur und Peroxydase- bzw. Laccase-Inaktivierungstemperatur für einige Pilze*

Pilzart	Optimale Wachstumstemperatur	Temperatur für 50 %ige Inaktivierung
Phellinus igniarius (PO) . .	28—30°	67°
Phellinus pini (PO)	20°	61°
Inonotus radiatus (PO) . .	24—28°	63°
Inonotus hispidus (PO) . .	30°	68°
Phellinus robustus (PO) . .	26—28°?	74°
Polystictus tomentosus (PO) .	etwa 26°	63°
Fomes annosus (Lacc) . . .	23—24°	61°
Trametes confragosa (Lacc) .	etwa 30°	73°

Wie die Zahlen zeigen, besteht für die untersuchten Arten eine gewisse Korrelation zwischen der Hitzeresistenz der Fermente und dem Temperaturoptimum des Mycelwachstums. Diejenigen Arten, deren Fermente ziemlich thermostabil sind (halbe Fermentinaktivierung bei Temperaturen über 65°), weisen auch ein relativ hohes Temperaturoptimum für das Wachstum auf. Das trifft zu für *Ph. igniarius*, *Inonotus hispidus* und *Trametes confragosa*. Bei *Ph. robustus* ist diese Beziehung nicht so klar. Umgekehrt zeigen die Arten mit hitzeempfindlichen Fermenten *(Ph. pini*, *Fomes annosus)* auch ein niedriges Temperaturoptimum für das Wachstum. Bei der begrenzten Zahl der untersuchten Arten ist es natürlich noch nicht möglich, weittragende Schlüsse zu ziehen. Immerhin ist es nach den vorliegenden Ergebnissen nicht unwahrscheinlich, daß die Hitzeresistenz der einzelnen Fermente mit der allgemeinen Temperaturresistenz der betreffenden Art parallel geht. Eine sehr gute

Übereinstimmung ist nicht unbedingt zu erwarten, da sich vermutlich die einzelnen Fermente des gleichen Pilzes in ihrer Hitzeempfindlichkeit unterscheiden und die Wachstumsrate von dem empfindlichsten Ferment begrenzt wird, wozu die untersuchten sicher nicht gehören. Dennoch ist es nicht ausgeschlossen, daß artspezifische Unterschiede bestehen, die sich relativ bei allen Fermenten in gleicher Weise auswirken. Meines Wissens liegen über dieses Problem noch keine eingehenden Untersuchungen vor.

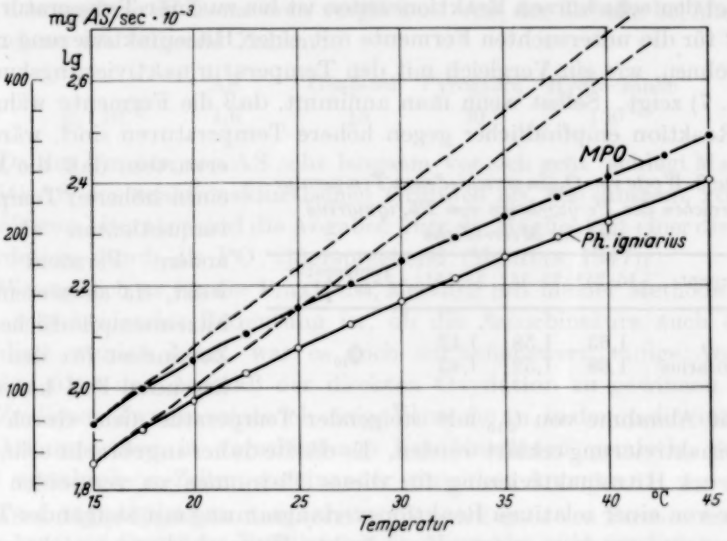

Abb. 8. Änderung der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur. Gestrichelte Linien: Theoretischer Verlauf für $Q_{10} = 2{,}0$. Reaktionsbedingungen: n/10 Acetatpuffer, pH 5,0, 3 mg H_2O_2, Benzidin-Endkonzentration 0,02%, 1,5 mg AS

Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit

Einige weitere Versuche dienten zur Ermittelung des Temperaturkoeffizienten der Peroxydasereaktion. Als Fermentpräparate benutzte ich die ungereinigte Kulturflüssigkeit von *Ph. igniarius* und eine halbgereinigte MPO. Beide Enzyme haben eine sehr verschiedene Hitzeempfindlichkeit (vgl. Abb. 7), wodurch es möglich ist, festzustellen, ob sich diese Eigenschaft auf den Temperaturkoeffizienten auswirkt.

Die Ergebnisse sind in Abb. 8 dargestellt.

Es ist zu erkennen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur zwar zunimmt, diese Zunahme bei höheren Temperaturen aber geringer als bei niedrigen ist. Zum Vergleich ist der theoretische Verlauf einer Reaktion eingetragen, bei der mit einer Temperaturerhöhung um 10° die Reaktionsgeschwindigkeit sich verdoppelt ($Q_{10}=2{,}0$). Wie auch aus Untersuchungen an anderen Fermenten bekannt ist [siehe Sumner u. Somers (1953) und Hoffmann-Ostenhof (1954)],

nimmt Q_{10} mit steigender Temperatur ab. Die rechnerisch ermittelten Werte für Q_{10} der untersuchten Peroxydasen sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Die Reaktionszeit betrug 20—90 sec. Aus dem Kurvenverlauf ist zu erkennen, daß — abgesehen von einer etwas unterschiedlichen Aktivität — keine Unterschiede in dem Verhalten der beiden Fermente bestehen. Die Abnahme von Q_{10} mit steigender Temperatur kann daher kaum durch eine Temperaturinaktivierung der Fermente erklärt werden.

Bei den sehr kurzen Reaktionszeiten ist bis zu einer Temperatur von 45° C für die untersuchten Fermente mit einer Hitzeinaktivierung nicht zu rechnen, wie ein Vergleich mit den Temperaturinaktivierungskurven (Abb. 7) zeigt. Selbst wenn man annimmt, daß die Fermente während der Reaktion empfindlicher gegen höhere Temperaturen sind, wäre zu erwarten, daß die MPO einen höheren Temperaturquotienten als das andere Ferment aufweist, da sie wesentlich hitzeunempfindlicher ist. Zumindest für den vorliegenden Fall kann daher die Abnahme von Q_{10} mit steigender Temperatur nicht durch eine Hitzeinaktivierung erklärt werden. Es dürfte daher angebracht sein, den Ausdruck Hitzeinaktivierung für dieses Phänomen zu vermeiden und besser von einer relativen Reaktionsverlangsamung mit steigender Temperatur zu sprechen, sofern eine direkte Hitzeschädigung nicht nachgewiesen ist. Den Grund für eine solche Verlangsamung könnte man vielleicht in einer nicht genügend raschen Diffusion eines der Reaktionspartner suchen.

Tabelle 3. *Werte von Q_{10} in verschiedenen Temperaturbereichen der Peroxydasen von Ph. igniarius und des Meerrettichs*

Ferment	15–25°	25–35°	35–45°	Temperatur in °C
MPO . . .	1,63	1,58	1,42	Q_{10}
Ph. igniarius	1,69	1,52	1,43	

H-Donatoren

Über die Eignung verschiedener Substanzen als H-Donatoren (früher auch als Substrate bezeichnet) für die Pilz-Peroxydasen wurde bereits berichtet (LYR 1955). Es ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Pilz-Peroxydasen und der MPO.

Die geringfügige Oxydation gewisser o-Phenolderivate durch Pilz-Peroxydasen ohne Peroxydzusatz konnte inzwischen eindeutig auf das Vorhandensein von Hydroperoxyd zurückgeführt werden, das sich bei der Autoxydation dieser Verbindungen durch Luftsauerstoff bildet. Eventuelle Beimischungen von Oxydasen in den ungereinigten Kulturflüssigkeiten lagen nicht vor.

Es ist möglich, daß die einzelnen Verbindungen von den verschiedenen Pilz-Peroxydasen mit unterschiedlicher Intensität umgesetzt werden, wofür in der Literatur für andere Peroxydasen bereits Beispiele vorliegen [CHANCE (1950), MAEHLY (1954)]. Da jedoch die üblicherweise verwendeten Polyphenole und Diamine kaum als natürliche H-Donatoren

in Betracht kommen, verspricht eine Klärung dieser Frage keine physiologisch bedeutsamen Erkenntnisse. Daher ging ich diesem Problem nicht weiter nach. Cytochrom-c, das möglicherweise ein natürlicher H-Donator ist, stand für die Untersuchungen nicht zur Verfügung.

Von einigem Interesse war jedoch die Frage, ob die Pilz-Peroxydasen die Ascorbinsäure direkt oxydieren können. CHANCE hatte eine solche direkte Oxydation der AS durch die MPO festgestellt und ihren Umsatz mit dem anderer H-Donatoren verglichen. Aus der Tabelle bei MAEHLY entnehme ich folgende Zahlen:

	AS	Guajacol	Pyrogallol	Hydrochinon
$k_4 \cdot 10^{-4}$	1,6	15	30	150

Da der Umsatz von AS sehr langsam vor sich geht, schlägt MAEHLY (1954) AS aus reaktionskinetischen Gründen als Testsubstanz vor. In der älteren Literatur sind die Angaben über die Möglichkeit einer direkten Oxydation durch die PO widersprechend (MICHLIN 1947).

Wenngleich es für die Praxis der Messung mit meiner Methode nicht von entscheidender Bedeutung ist, ob die Ascorbinsäure auch direkt oxydiert werden kann, war es doch wünschenswert, einige Anhaltspunkte über das Ausmaß der direkten Oxydation zu gewinnen.

Zu diesem Zwecke setzte ich einige Versuche an, in denen die einzelnen Reaktionspartner in verschiedenen Kombinationen gemischt wurden und verschiedene Zeiten aufeinander einwirken konnten.

AS + H_2O_2: Ergibt die Autoxydation. Durch Zugabe von Ferment und Benzidin kann auf Grund der Reaktionszeit die Menge der nicht oxydierten AS bestimmt werden.

Ferment + H_2O_2: Ergibt die Fermentinaktivierung durch die Einwirkung von Hydroperoxyd. Die Fermentaktivität wird nach Zusatz von AS und Benzidin gemessen.

Ferment + AS: Ergibt die Autoxydation von AS durch Luftsauerstoff in Gegenwart des Fermentpräparates.

Ferment + AS + H_2O_2: Ergibt die direkte AS-Oxydation durch die Peroxydase. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit wird nach Zusatz von Benzidin die nicht oxydierte AS auf Grund der Reaktionszeit bestimmt. Diese müßte kürzer als die der Kontrolle sein, falls AS direkt durch die Peroxydase angegriffen wird. Da inzwischen infolge von Autoxydation durch H_2O_2 ein Teil der AS verbraucht ist, sind die Werte um diesen Betrag zu korrigieren.

Als Bezugsgröße (Fermentaktivität = 100%, AS-Autoxydation = 0%) diente die zur Oxydation der vorgelegten AS-Menge unter Normalbedingungen benötigte Reaktionszeit.

Aus Abb. 9 ist zu ersehen, daß Ascorbinsäure — wenn sie in bidestilliertem Wasser gelöst ist — durch Luftsauerstoff nur wenig angegriffen wird. Dafür setzt eine rasche Oxydation in Gegenwart von Hydroperoxyd ein. Die Anwesenheit von Benzidin beschleunigt diese Autoxydation nur geringfügig. Unter den in diesem Versuch gewählten

Bedingungen sind nach 150 min 72% der ursprünglich vorhandenen AS-Menge oxydiert worden (4 mg AS, 6 mg H_2O_2, p_H 3,2). Zur Oxydation von 50% AS durch H_2O_2 allein sind 2520 sec erforderlich, bei Zusatz von Ferment und Benzidin nur 39 sec; das entspricht einer Beschleunigung um das 65fache. Legt man die Werte von AS + H_2O_2 + Benzidin mit 1440 sec zugrunde, so erhält man bei Fermentzusatz eine Beschleunigung um das 37fache. Eine Messung der direkten Oxydation von AS

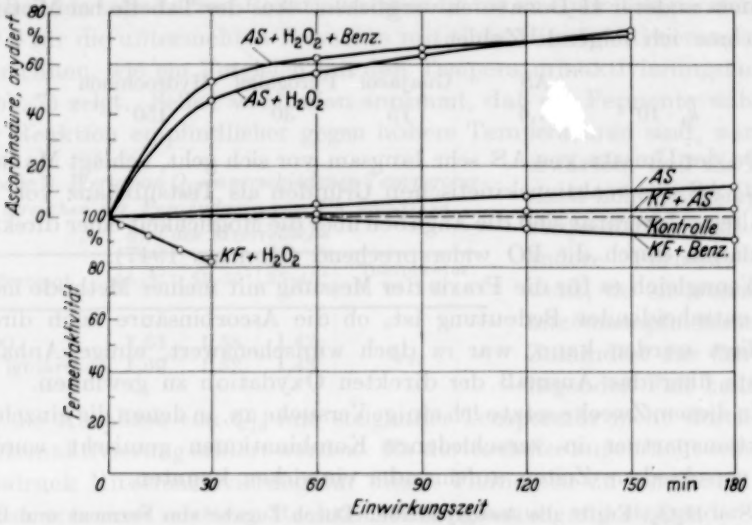

Abb. 9. Autoxydation der Ascorbinsäure und Beeinflussung der Fermentaktivität durch H_2O_2. (Die Reaktionspartner wurden bei 20° C verschiedene Zeiten aufeinander einwirken gelassen.) Reaktionsbedingungen: 25° C, konz. Acetatpuffer p_H 3,2, 6 mg H_2O_2, 4 mg AS, Benzidin-Endkonzentration 0,025 %, Ferment: ungereinigte Kulturflüssigkeit von *Ph. igniarius*

durch die PPO war in diesem Versuch unmöglich, da sehr starke Hemmungseffekte auftraten. Dieses merkwürdige Phänomen konnte bei Verwendung verschiedener Fermentpräparate beobachtet werden, wobei das Ausmaß der Hemmung unterschiedlich war. (Die in Abb. 9 dargestellte Abnahme der Fermentaktivität bei Einwirkung von Benzidin auf die Kulturflüssigkeit kann evtl. durch eine geringfügige Ausfällung des Benzidins bedingt sein, da nach längerer Zeit eine leichte Trübung auftrat.)

Da in dem in Abb. 9 wiedergegebenen Versuch die Hydroperoxydkonzentration ziemlich hoch war, wurden in späteren Versuchen die Reaktionsbedingungen geändert. Für den in Abb. 10 dargestellten Versuch benutzte ich nur 0,3 mg H_2O_2. Die vorgelegte Ascorbinsäure-Menge betrug 0,5 mg, der p_H-Wert 5,0. Nach 3420 sec waren 50% der AS infolge Autoxydation durch H_2O_2 verbraucht. Die fermentative Oxydation benötigte in Gegenwart von Benzidin für den Umsatz der gleichen

Menge AS nur 34 sec, was einer Reaktionsbeschleunigung um das 100fache entspricht. Auch bei diesen Versuchen ließ sich niemals eine Beschleunigung der AS-Oxydation durch das Ferment gegenüber der Autoxydation durch H_2O_2 allein nachweisen. Es trat im Gegenteil wiederum das merkwürdige Phänomen auf, daß die Peroxydasen in Gegenwart von Hydroperoxyd und AS ziemlich stark gehemmt wurden. Diese Tatsache ist um so beachtenswerter, als eine Hemmung in dieser

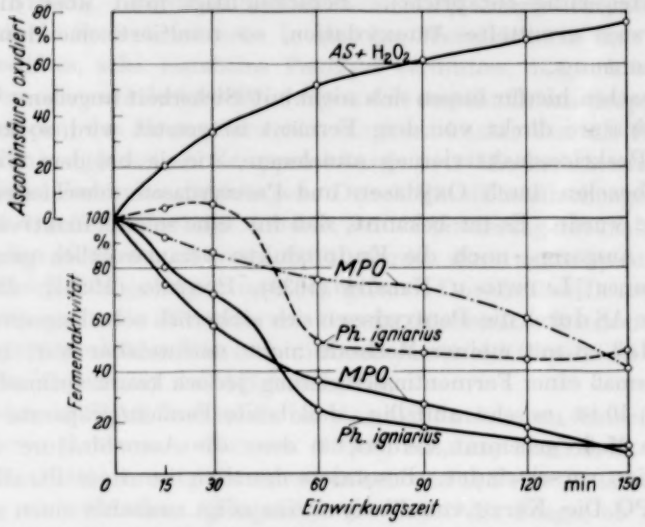

Abb. 10. Fermenthemmung und Oxydation von AS durch H_2O_2. Fermentpräparate: Halbgereinigte MPO und ungereinigte Kulturflüssigkeit von *Ph. igniarius*. Reaktionsbedingungen: 25° C, n/10 Acetatpuffer p_H 5,0, 0,3 mg H_2O_2, 0,5 mg AS, Benzidin-Endkonzentration 0,02%

Stärke weder durch Hydroperoxyd noch durch AS allein zu erzielen ist. Auch eine längere Einwirkung von Benzidin auf das Ferment hat keinen Einfluß auf die Aktivität.

Da die Möglichkeit bestand, daß eine eventuelle direkte AS-Oxydation infolge einer rasch einsetzenden Reaktionsinaktivierung nicht mehr zu erkennen war, wurde die noch vorhandene AS-Menge auch nach kurzen Einwirkungszeiten von Ferment + AS + H_2O_2 bestimmt. Nach 1, 2, 3, 4 min, während deren die drei Reaktionspartner aufeinander wirken konnten, war keine Abnahme der AS-Menge gegenüber den Kontrollen festzustellen. Die Versuche wurden sowohl mit MPO als auch mit der PO von *Ph. igniarius* ausgeführt. Statt einer Verkürzung der Reaktionszeit gegenüber der Kontrolle trat im Gegenteil eine langsame Zunahme der Reaktionszeit ein, die wahrscheinlich eine Resultante aus verschwindender AS-Menge infolge Autoxydation durch H_2O_2 und Fermenthemmung ist. Dafür sprechen auch die in Abb. 10 dargestellten

Ergebnisse. Mit unterbrochenen Linien sind dort die direkt gemessenen, scheinbaren Fermentaktivitäten eingetragen. Die ausgezogenen Linien entsprechen den realen Fermentaktivitäten. Diese erhält man, wenn man die direkt gemessenen Reaktionszeiten um den Betrag der inzwischen durch Autoxydation verbrauchten AS-Menge korrigiert. Es ist zu erkennen, daß z. B. im Falle von *Ph. igniarius* zunächst eine Verkürzung der Reaktionszeit eintrat (was einer scheinbaren Aktivitätssteigerung entspricht). Berücksichtigt man aber die im Parallelversuch ermittelte Autoxydation, so resultiert eine deutliche Fermenthemmung.

Die Ursachen hierfür lassen sich nicht mit Sicherheit angeben. Wenn die Ascorbinsäure direkt von dem Ferment umgesetzt wird, so könnte man eine Reaktionsinaktivierung annehmen, wie sie bei dem Umsatz von Polyphenolen durch Oxydasen und Peroxydasen verschiedentlich beschrieben wurde. Es ist bekannt, daß für eine solche Inaktivierung weder die Ausgangs- noch die Endprodukte verantwortlich gemacht werden können [LUDWIG u. NELSON (1939), PONTING (1954)]. Da der Umsatz der AS durch die Peroxydasen sich sicherlich sehr langsam vollzieht, so daß er mit meiner Methode nicht nachweisbar war, ist ein solches Ausmaß einer Fermentinaktivierung jedoch kaum anzunehmen.

In Abb. 10 ist es sehr auffällig, daß beide Fermentpräparate etwa in gleichem Maße gehemmt werden, in dem die Ascorbinsäure durch Autoxydation verschwindet. Besonders deutlich ist diese Parallelität bei der MPO. Die Kurve von *Ph. igniarius* zeigt zunächst einen etwas anderen Verlauf, da die Hemmung anfänglich geringer ist. Diese Abweichung ist evtl. durch die Beimischung anderer Eiweißkörper in der ungereinigten Kulturflüssigkeit zu erklären, die das Ferment zunächst vor einer Inaktivierung schützen, nach deren Verbrauch dieser Prozeß aber in gleichem Maße wie bei dem MPO-Präparat einsetzt. Daß es sich hierbei tatsächlich um eine Fermenthemmung handelt, wird dadurch bewiesen, daß nach Zugabe der gleichen Menge von frischem Enzym Reaktionszeiten erhalten werden, die genau der durch Autoxydation noch nicht verbrauchten AS-Menge entsprechen, wie sie aus dem Parallelansatz ermittelt wurde, wobei die noch verbliebene Restaktivität des ersten Fermentzusatzes berücksichtigt ist. Selbst nach 150 min war demnach der Verbrauch an Ascorbinsäure in Gegenwart von Peroxydase nicht meßbar größer als der Umsatz durch Autoxydation.

Die merkwürdige Übereinstimmung zwischen der Autoxydation der AS und der gleichzeitig ablaufenden Fermentinaktivierung legt den Gedanken nahe, daß im Zuge einer Autoxydation ein gleichzeitig anwesendes Ferment inaktiviert werden kann. In gleicher Richtung deutet die Beobachtung von KEILIN und HARTREE (1955), wonach Glukose-Oxydase durch die Autoxydation von AS inaktiviert wird. Auch hier können weder

die Ausgangs- noch die Endprodukte dafür verantwortlich sein. Als einzige Erklärungsmöglichkeit bleibt somit die Annahme, daß während der Oxydation eine sehr aktive Zwischenverbindung entsteht, die die Hemmung bewirkt. Ob diese hypothetische Zwischenverbindung bei der fermentativen Oxydation und bei der Autoxydation die gleiche ist, kann vorläufig noch nicht entschieden werden. Manche Hinweise sprechen dafür, daß beide Vorgänge etwas verschieden sind [Oppenheimer und Stern (1939)]. Ponting (1954) nimmt als mögliches Intermediärprodukt ein Semichinon an. In gleicher Weise könnte man auch ein intermediäres, sehr instabiles Peroxyd vermuten, das sich sehr rasch zersetzen oder evtl. lockere Bindungen mit empfindlichen Gruppen (etwa SH-Gruppen) des Fermenteiweißes eingehen kann. Von der Beständigkeit solcher aggressiven Gruppen könnte evtl. die inaktivierende Wirkung einer Verbindung abhängen. Durch Eiweißbeimischungen, wie sie in Form von Gelatine einige Autoren zur Verhinderung der Inaktivierung verwenden (Gregg u. Miller 1940), werden diese aggressiven Gruppen wahrscheinlich abgefangen und „entgiftet". Durch diese Deutung ließen sich evtl. auch die Befunde von Geyer, Marshall, Ryan und Westhaver (1955) erklären, die eine nichtenzymatische Oxydation von Fettsäuren in Gegenwart von AS feststellten.

Weder im BAS-Test noch bei der Oxydation von Catechol durch Tyrosinase [Ludwig u. Nelson (1939), Miller, Mallette, Roth u. Dawson (1944)] vermag die Anwesenheit von AS eine Reaktionsinaktivierung zu verhindern. Ungeklärt ist dabei die Frage, ob die intermediären Oxydationsprodukte des primären H-Donators oder die der AS die Hemmung bewirken. In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von Keilin u. Hartree (1951) bemerkenswert, wonach in Gegenwart von AS und (durch Notatin erzeugtes) Hydroperoxyd eine Ausfällung der Katalase beobachtet werden konnte. AS scheint auch hier bei der Autoxydation „gerbstoffartige" Eigenschaften zu entfalten. Die Ascorbinsäure ist für das Studium dieser Fragen besonders geeignet, da sie ein einfaches Oxydationsprodukt liefert und nicht polymerisiert.

Wahrscheinlich wird Ascorbinsäure auch direkt von den Pilz-Peroxydasen oxydiert. Allerdings dürfte der Umsatz wesentlich geringer als bei der durch Benzidin katalysierten Reaktion sein. Praktisch kann man daher Benzidin als den primären H-Donator bei dieser Reaktion ansehen.

Diskussion

Wie die Untersuchungen gezeigt haben, ist eine Reihe von höheren Pilzen zur Bildung von Peroxydase befähigt. Es gehören dazu nicht nur typische Holzzerstörer, sondern auch Streuzersetzer (*Phallus impudicus* und *Mutinus caninus*). Letztere sind in ihrer Ökologie noch wenig untersucht. Von den holzbewohnenden Arten ist jedoch bekannt,

daß sie Lignin abzubauen vermögen. Auch *Mutinus caninus* kann an Laubholzstubben eine schwammige Weißfäule hervorrufen.

Ein Blick auf Tabelle 1 lehrt, daß die einzelnen Arten sehr verschiedenen, untereinander nicht näher verwandten Gattungen angehören. Die Fähigkeit zur PO-Bildung ist offensichtlich nicht als typische Eigenschaft bestimmter Gattungen anzusehen, sondern artspezifisch festgelegt. Die nächsten Verwandten von *Nematoloma sublateritium*, nämlich *Nematoloma fasciculare* und *N. capnoides* bilden nach den bisherigen Untersuchungen nur Laccase. Ebenso produzieren nicht alle *Stereum*-Arten Peroxydase. Es ist daher fraglich, ob man aus dem Vorkommen dieses Fermentes verwandtschaftliche Beziehungen ableiten kann. Immerhin fällt aber auf, daß die PO-Bildung offenbar in der von PILAT zusammengestellten Gattung *Phellinus* sehr häufig ist. Ob es sich aber um ein durchgängiges Merkmal aller Arten handelt, kann bei der geringen Zahl bisher untersuchter Arten noch nicht gesagt werden. Auch die beiden Vertreter der *Phallaceae* können PO bilden, wobei diese Fähigkeit bei *Phallus impudicus* ausgeprägter ist. Einige *Lycoperdon*-Arten, die untersucht wurden, bilden dagegen nur Laccase. Bei *Phallus impudicus* ist die PO-Bildung auf das Substrat-Mycel beschränkt; im Fruchtkörper läßt sich keine PO-Aktivität nachweisen. Eine solche ist nur an der Basis junger Fruchtkörperanlagen vorhanden, was offenbar auf den Einfluß des Substrat-Mycels zurückzuführen ist. Verschiedene Beobachtungen, die zu einem späteren Zeitpunkt mitgeteilt werden sollen, haben ergeben, daß das Ferment auch in den Fruchtkörpern einiger bodenbewohnender Hymenomyceten auftritt. Jedoch ist es keineswegs allgemein verbreitet.

Ob das Ferment bei den Pilzen auch intracelluläre Funktionen übernimmt, können erst weitere Untersuchungen zeigen, die eingeleitet worden sind. Eine Beziehung zwischen Struktur und Pigmentierung der Hyphen und der Fähigkeit zur Fermentsynthese besteht nicht. Zwar zeichnen sich viele der PO-Bildner durch kräftige, bräunlich gefärbte Hyphen aus (besonders die Vertreter der Gattung *Phellinus*), jedoch haben *Nematoloma sublateritium* und *Phallus impudicus* ein rein weißes Mycel im jugendlichen Zustand.

Das reichliche Auftreten der Peroxydase als Ektoenzym stellt natürlich besondere Probleme. Die Untersuchungen haben ergeben, daß es sich bei der Ausscheidung um einen normalen Prozeß handelt. Dadurch wird die Auffassung begünstigt, daß das Ferment seine Funktion außerhalb der Zelle verrichtet. Das Ausmaß der Fermentausscheidung bei den meisten Arten spricht dafür, daß es sich um einen Prozeß von besonderer ökologischer Bedeutung handelt.

Sehr auffällig ist die Tatsache, daß sich unter den PO-Bildnern eine große Zahl von typischen Kernholzzerstörern befindet. *Phallus impudicus*,

Mutinus caninus und *Nematoloma sublateritium* muß man vorläufig noch außerhalb der Diskussion lassen, da über ihre Ökologie noch wenig bekannt ist. Die anderen Arten sind, soweit sie identifiziert sind, als Kernholzspezialisten an bestimmten Holzarten bekannt. Das schließt nicht aus, daß sie in künstlicher Kultur auch Splintholz abbauen können. Eine bloße Schutzfunktion der PO gegen toxische Kernsubstanzen ist — wie auch die Versuche von BAVENDAMM (1928) gezeigt haben — wenig wahrscheinlich, da auch andere Arten, die keine PO bilden, als Kernholzzerstörer auftreten [*Grifola sulphurea*, *Phaeolus (Polyporus) schweinitzii*, *Lentinus squamosus* u. a.]. Diese Arten greifen aber nur die Cellulose des Kernholzes an. Wenn die PO für die Kernholzzerstörer eine besondere ökologische Bedeutung hat, so ist diese wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Ligninabbau zu suchen. Es wäre denkbar, daß das Lignin im Prozeß der Verkennung eine Veränderung erfahren hat, die es für Laccase schwer angreifbar macht. Eine solche Veränderung ist durch reichliche Gerbstoffeinlagerung vielleicht gegeben. Es fällt auf, daß die PO-Bildner bevorzugt an gerbstoffreichen Holzarten (Kiefer, Eiche, Robinie) auftreten, deren Kernholz gegen andere Pilze sehr widerstandsfähig ist. Für die Angreifbarkeit einer Verbindung durch Polyphenoloxydasen spielen schon kleinere Änderungen in der Art und Zahl der freien Hydroxylgruppen eine bedeutende Rolle. Wenn auch PO und Laccase ein sehr ähnliches Wirkungsspektrum besitzen, scheint die PO doch universeller als die Laccase zu sein. Während die PO z. B. Phenol sehr rasch oxydiert, ist gereinigte Laccase hierzu wahrscheinlich nicht in der Lage. Gleiches gilt für das Resorcin. Damit ließe sich vielleicht die Überlegenheit der PO-Bildner gegenüber den Laccase produzierenden Pilzen bei dem Abbau des Kernholzes erklären. Es würde dadurch auch verständlich sein, daß beide Typen Splintholz in gleicher Weise anzugreifen vermögen. Inwieweit diese zunächst völlig hypothetischen Vorstellungen zutreffend sind, können nur weitere Untersuchungen erweisen.

Für eine Oxydation durch die PO ist natürlich Peroxyd notwendig, und es erhebt sich die Frage, wie es gebildet wird. Über das Vorkommen von peroxydischen Gruppen im Kernholz ist meines Wissens bisher nichts bekannt. Obwohl ihr Auftreten nicht ausgeschlossen ist, dürften diese Mengen an peroxydisch gebundenem Sauerstoff wohl kaum ausreichen, um einen intensiveren Ligninabbau zu ermöglichen. Es ist daher wahrscheinlicher, daß der Pilz selbst Peroxyde erzeugt und ausscheidet. Peroxydbildende Enzymsysteme sind in Pilzen zwar nachgewiesen, jedoch ist nicht bekannt, ob Peroxyde auch ausgeschieden werden können. Dadurch ergibt sich noch eine Reihe von Problemen, deren Lösung erst abgewartet werden muß, ehe die Funktion der Peroxydase bei holzzerstörenden Pilzen weiter diskutiert werden kann. Entsprechende Untersuchungen sind eingeleitet.

Zusammenfassung

1. Bei vergleichenden Untersuchungen an 182 Arten von holzzerstörenden und bodenbewohnenden Basidiomyceten konnte bei 14 Arten eine reichliche Peroxydase-Bildung festgestellt werden.

2. Peroxydase tritt ebenso wie Laccase bei höheren Pilzen als konstitutives Ektoenzym auf. Die Ausscheidung des Fermentes in Flüssigkeitskulturen wurde für 4 Pilzarten mit Hilfe des BAS-Testes in Abhängigkeit von der Kulturdauer quantitativ verfolgt.

3. Die Pilzperoxydasen ähneln in vielen Eigenschaften der Peroxydase des Meerrettichs. Ihre p_H-Optima liegen zwischen 5,0 und 6,3.

4. In der Hitzeresistenz unterscheiden sie sich nicht wesentlich von den Pilz-Laccasen, wohl aber von der Meerrettich-Peroxydase, die ausnahmsweise hitzebeständig ist. Im einzelnen bestehen artspezifische Resistenzunterschiede bei den untersuchten Pilzfermenten, die möglicherweise mit der allgemeinen Temperaturresistenz der betreffenden Art parallel gehen.

5. Die Peroxydasen von *Phellinus igniarius* und des Meerrettichs haben den gleichen Temperatur-Quotienten. Die Abnahme von Q_{10} mit steigender Temperatur ist in diesem Fall nicht auf eine Hitzeinaktivierung zurückzuführen.

6. Eine direkte Oxydation der Ascorbinsäure durch die Peroxydasen ließ sich bei der angewendeten Methodik nicht nachweisen, da eine ausgeprägte Fermentinaktivierung auftrat, deren mögliche Ursachen diskutiert werden.

7. Als mögliche Funktion der Peroxydase holzzerstörender Pilze wird eine Beteiligung am Ligninabbau angenommen.

Für die unermüdliche Assistenz bei der Durchführung der Untersuchungen möchte ich Frl. CHRISTEL HEFFE vielmals danken, während Frau CHARLOTTE SCHÄGE für die Betreuung der Pilzkulturen und Frl. MARIE-ANNE HINZ für die Hilfe bei den Fermentreinigungen besonderer Dank gebührt.

Literatur

BAVENDAMM, W.: Neue Untersuchungen über die Lebensbedingungen holzzerstörender Pilze. II. Mitt. Gerbstoffversuche. Zbl. Bakter. II **76**, 172 (1928). — BOSE, S. R., and S. N. SARKAR: Enzymes of some wood-rotting Polypores. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **123**, 193 (1937). — CARTWRIGHT, K. ST. G., and W. P. K. FINDLAY: Studies in the physiology of wood-destroying fungi II. Temperature and rate of growth. Ann. of Bot. **48**, 481 (1934). — Principal decays of British hardwoods. Ann. Appl. Biol. **29**, 219 (1942). — CHANCE, BR.: Reaction of ferro-cytochrom c with peroxidases and peroxides. Federat. Proc. **9**, 160 (1950). — FAHRAEUS, G.: Formation of laccase by Polyporus versicolor in different culture media. Physiol. Plantarum **5**, 284 (1952). — FAHRAEUS, G., and G. LINDEBERG: Influence of tyrosine and some other substances on the laccase formation in Polyporus species. Physiol. Plantarum **6**, 150 (1953). — GALLAGHER, P. H.: Mechanism of oxidation in the plant III. Peroxidase. Observations on the thermostability of the

peroxidase of the mangold. Biochemic. J. **18**, 39 (1924). — GARREN, K. H.: Studies on Polyporus abietinus I. The enzyme-producing ability of the fungus. Phytopathology **28**, 839 (1938). — GEYER, R. P., L. MARSHALL, M. RYAN and S. WESTHAVER: Aerobic $C^{14}O_2$ formation from carboxyl-labeled stearic and palmitic acids in the presence of ascorbic acid. Arch. of Biochem. a. Biophysics **56**, 549 (1955). — GREGG, D. C., and W. H. MILLER: A laccase from the wild mushroom Russula foetens. J. amer. chem, Soc. **62**, 1374 (1940). — HOFFMANN-OSTENHOF, O.: Enzymologie. Wien 1954. — HUMPHREY, C. J., and P. V. SIGGERS: Temperature relations of wood-destroying fungi. J. agricult. Res. **47**, 997 (1933). — KALAUCH, C.: Redoxpotential, r_H-Messung. Pharmazie **9**, 634 (1954). — KAVINA, CH., et A. PILAT: Atlas des Champignons de l'Europe **3** (1942). — KEILIN, D., and E. F. HARTREE: Purification of horseradish-peroxidase and comparison of its properties with those of catalase and methaemoglobin. Biochemic. J. **49**, 88 (1951). — Catalase, peroxidase and metmyoglobin as catalysts of coupled peroxidatic reactions. Biochemic. J. **60**, 310 (1955). — KLEIN, G: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 2, Teil 1. Wien 1932. — LANPHERE, W. M.: Enzymes of the rhizomorphs of Armillaria mellea. Phytopathology **24**, 1244 (1934). — LAW, K.: Phenol oxidases in some wood-rotting fungi. Ann. of Bot., N. S. **14**, 69 (1950). — LINDEBERG, G.: On the decomposition of lignin and cellulose in litter caused by soil-inhabiting Hymenomycetes. Ark. Bot. (Stockh.) A **33**, 1 (1946). — LINDEBERG, G., and G. FAHRAEUS: Nature and formation of phenol oxidases in Polyporus zonatus and P. versicolor. Physiol. Plantarum **5**, 277 (1952). — LINDEBERG, G., and G. HOLM: Occurrence of tyrosinase and laccase in fruit bodies and mycelia of some Hymenomycetes. Physiol. Plantarum **5**, 100 (1952). — LUDWIG, B. J., and J. M. NELSON: Inactivation of tyrosinase in the oxidation of catechol. J. amer. chem. Soc. **61**, 2601 (1939). — LYR, H.: Vorkommen von Peroxydase bei holzzerstörenden Basidiomyceten. (Vorl. Mitt.) Planta (Berl.) **46**, 408 (1955). — Ein neues Peroxydase-Bestimmungsverfahren. Biochem. Z. im Druck (1957). — MAEHLY, A. G.: The assay of catalases and peroxidases. I. General assay methods. In: Methods of Biochem. Analysis. ed. by D. GLICK. New York: Intersc. Publ. Inc. 1954. — MEIER, H.: Über den Zellwandabbau durch Holzvermorschungspilze und die submikroskopische Struktur von Fichtentracheiden und Birkenholzfasern. In Holz als Roh- und Werkstoff, Bd. **13**, S. 323. 1955. — MICHLIN, D. M.: Peroxyde und Peroxydasen (russisch). Moskau 1947. — MILLER, H., FR. MALLETTE, L. J. ROTH and CH. R. DAWSON: A new method for the measurement of tyrosinase catecholase activity. II. Catecholase activity based on the initial reaction velocity. J. amer. chem. Soc. **66**, 514 (1944). — NOBLES, M. K.: Studies in forest pathology VI. Canad. J. Res., Sect. C **26**, 281 (1948). — NORKRANS, B.: Studies in growth and cellulolytic enzymes of Tricholoma. Symbolae bot. Upsalienses **11**, 1 (1950). — OPPENHEIMER, C., and K. STERN: Biological oxidation. The Hague 1939. — PONTING, J. D.: Reversible inactivation of polyphenol oxidase. J. amer. chem. Soc. **76**, 662 (1954). — PURR, A.: Zur Bestimmung pflanzlicher Peroxydasen. Biochem. Z. **321**, 1 (1950a). — Über das Regenerierungsphänomen pflanzlicher Peroxydasen. Biochem. Z. **321**, 19 (1950b). — SUMNER, J. B., and G. F. SOMERS: Chemistry and methods of enzymes. New York: Acad. Press Inc. 1953. — YAKUSHIJI, E.: Untersuchungen über die Polyphenolasen. Acta Phytochim. (Tokyo) **10**, 63 (1937). — ZEILE, K.: Peroxydase. In E. BAMANN u. K. MYRBÄCK, Die Methoden der Fermentforschung. Leipzig 1941.

Dr. H. LYR, Eberswalde bei Berlin, Institut für Forstbotanik
der Humboldt-Universität Berlin

Planta, Bd. 48, S. 266—268 (1956)

Kurze Mitteilung

Aus dem Forstbotanischen Institut München

BACTERIUM RADICICOLA IM ELEKTRONENMIKROSKOP

Von

HUBERT ZIEGLER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 24. August 1956)

Das von BEIJERINCK (1888) aus den Wurzelknöllchen der Leguminosen isolierte und beschriebene *Bacterium radicicola* ist nach den lichtoptischen Befunden auch in künstlicher Kultur sehr polymorph. So gibt BEIJERINCK für die Schwärmer eine Länge von 0,9 μ und eine Breite von nur 0,18 μ, für Stäbchen aus den Knöllchen von *Vicia faba* eine Länge von 5 μ und eine Dicke von 1 μ an; MÜLLER und STAPP (1926) fanden Längen zwischen 0,9 μ und 7,2 μ und Durchmesser von 0,5 μ und 1 μ. Normalerweise wurde für das Bakterium eine polare Begeißelung festgestellt, wobei die Zahl der Geißeln auch innerhalb derselben Rasse recht variabel zu sein scheint. Für *Bacterium radicicola* aus *Phaseolus* fanden MÜLLER und STAPP selten eine, meist 2,3,4 und mehr Flagellen. Diese Geißeln werden in der Kultur und in den Knöllchen sehr leicht abgeworfen.

Die Normalform des *Bacterium radicicola* wird in den Knöllchen bekanntlich von einer bestimmten Phase an mehr oder weniger stark verändert, zur „Bakterioidform" umgewandelt.

Die Abbildung zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme[1] von *Bacterium radicicola* aus den Knöllchen von *Phaseolus vulgaris* L.

Zur Präparation wurden junge Knöllchen (mit etwa 2 mm Durchmesser) nach den Angaben von MÜLLER und STAPP (nach Vorreinigung Spülen mit sterilem Wasser, 10 min Baden in 80%igem Äthanol und Abflammen) sterilisiert und dann in sterilem Wasser zerquetscht. Die Gewebesuspension wurde auf der Zentrifuge fraktioniert und so die Bakterien von den meisten übrigen Teilen getrennt. Von der Bakterienaufschwemmung wurde eine Öse auf den Zapon-Lack eines EM-Objektträgers gebracht und nach Antrocknen das Präparat mit TiO_2 unter 45° schräg bedampft.

Typische Bakterioide, etwa X- oder Y-Formen, konnten bei unseren Präparaten nicht festgestellt werden; sie sind nach den lichtoptischen Befunden bei der *Phaseolus*-Rasse auch nicht oder höchstens sehr selten zu beobachten. Zumeist war das Plasma der Stäbchen aber am Ende, in einzelnen zentralen Bereichen oder auch ringsum mehr oder weniger

[1] Angefertigt mit dem EM 8 im II. Physikalischen Institut der Universität München (Vorstand Prof. Dr. W. ROLLWAGEN).

gleichmäßig angedaut; der letzte Fall erwies sich vor allem für die Feststellung der Geißelinsertion als besonders günstig.

Abb. 1. Elektronenmikroskopische Aufnahme von *Bacterium radicicola* aus den Knöllchen von *Phascolus vulgaris*. Vergr. 22000fach (Aufnahmevergr. 5000fach). Mit TiO_2 schräg bedampft

Die Länge der abgebildeten Formen beträgt 2,2 μ bzw. 1,68 μ, der Durchmesser zwischen 0,7 μ und 0,77 μ.

In unseren Präparaten überwogen die geißellosen Stäbchen. Zum Teil waren die Flagellen während der Präparation abgerissen — isolierte Geißeln fanden sich häufig zwischen den Bakterien (vgl. Abb. 1) —,

zum größeren Teil waren aber die Formen wohl schon in den Knöllchen geißellos geworden.

Unter den begeißelten Stäbchen herrschten die eingeißeligen vor, doch fanden sich vereinzelt auch zwei- und mehrgeißelige Formen. Die abgebildeten (an den Bakterien inserierten) Flagellen sind 4,4—5,15 μ lang, doch kann nicht mit Sicherheit behauptet werden, daß nicht Teile abgerissen sind und die ursprüngliche Geißellänge erheblicher war. Die Geißeldicke beträgt etwa 100—150 Å. Die Geißeln zeigten stets 2—5 Windungen, wobei die Spiralperiode durchwegs etwa 2 μ betrug, ein Wert, der auch bei *Proteus* gefunden wurde (REICHERT 1909; zit. nach SCHUSSNIG 1953).

Aufschlußreich scheinen die abgebildeten Formen vor allem bezüglich der Geißelinsertion. Läßt das eine Bakterium den Ursprung der Geißel im Plasma erkennen, so macht das zweite die Art der Verankerung deutlich: Ein Basalkorn, wie es schon von älteren Autoren auf Grund ihrer lichtoptischen Beobachtungen für verschiedene Formen angenommen (vgl. SCHUSSNIG) und von HOUWINK und VAN ITERSON (1950) für den peritrich begeißelten *Proteus vulgaris* elektronenmikroskopisch abgebildet wurde, ist auch bei *Bacterium radicicola* ausgebildet. Sein Durchmesser beträgt (ebenso wie bei Proteus) 100 μ, also etwa das 6—10fache des Geißeldurchmessers.

Literatur

BEIJERINCK, M. W.: Die Bakterien der Papilionaceenknöllchen. Bot. Ztg **46**, 725—735, 741—750, 757—771, 781—790, 797—804 (1888). — HOUWINK, A. L., and W. VAN ITERSON: Electron microscopical observations on bacterial cytology. II. A study on flagellation. Biochim. et biophysica Acta **5**, 10—44 (1950). — MÜLLER, A., u. C. STAPP: Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenbakterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. Arb. biol. Reichsanst. **14**, 455—534 (1926). — SCHUSSNIG, B.: Handbuch der Protophytenkunde, Bd. I. Jena 1953.

Priv.-Doz. Dr. H. ZIEGLER, München 13,
Forstbotanisches Institut der Universität, Amalienstr. 52

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Anleitungen für die chemische Laboratoriumspraxis

Herausgegeben von **H. Mayer-Kaupp**, Heidelberg.

Siebenter Band: **Mikrochemisches Praktikum.** Von **Georg Gorbach**, Graz. Mit 72 Abbildungen im Text. VIII, 123 Seiten 8°. 1956.

Steif geheftet DM 15.—

Inhaltsverzeichnis: Vorwort. — Einleitung. — **Die Waage. — Beschreibung und Anwendung mikrochemischer Arbeitsgeräte. — Qualitative Mikrochemie. — Präparative Mikrochemie. — Quantitative Mikrochemie. — Bestimmung physikalischer Konstanten. — Methodik der Anreicherung von Spurenelementen in der Spektralanalyse.** — Literaturverzeichnis. Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Erwin Bünning**, Tübingen, und **Ernst Gäumann**, Zürich.

Achtzehnter Band: Bericht über das Jahr 1955. Mit 30 Abbildungen.
VI, 385 Seiten Gr.-8°. 1956. DM 59.—

Ganzleinen DM 62.60

Inhaltsübersicht: **Morphologie: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — **Morphologie einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung.** Von Professor Dr. K. Steffen, Marburg a. d. Lahn. — **Submikroskopische Morphologie.** Von Privatdozent Dr. K. Mühlethaler, Zürich. — **Systemlehre und Pflanzengeographie: Systematik und Phylogenie der Algen.** Von Professor Dr. B. Schussnig, Jena. — **Systematik und Stammesgeschichte der Pilze.** Von Dozent Dr. H. Kern, Zürich. — **Systematik der Flechten.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Moose** [1]). Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Pteridophyten.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Spermatophyta.** Von Privatdozent Dr. H. Merxmüller, München. — **Paläobotanik** [1]). Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — **Systematische und genetische Pflanzengeographie.** Areal- und Florenkunde. Von Professor Dr. H. Gams, Innsbruck. — Floren- und Vegetationsgeschichte seit dem Ende des Tertiärs. Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim, und Professor Dr. H. Ellenberg, Hamburg. — **Ökologie.** Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **Physiologie des Stoffwechsels: Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensprozesse (Strahlenbiologie)** [1]). Von Professor Dr. W. Simonis, Hannover. — **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. H. J. Bogen, Braunschweig. — **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. B. Huber, München, und Privatdozent Dr. L. Bauer, Tübingen. — **Mineralstoffwechsel.** Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — **Stoffwechsel organischer Verbindungen I (Photosynthese)** [1]). Von Professor Dr. A. Pirson, Marburg a. d. Lahn. — **Stoffwechsel organischer Verbindungen II** [1]). Von Dr. F. Eberhardt, Tübingen, z. Z. Ottawa (Canada). — **Physiologie der Organbildung: Vererbung.** Genetik der Mikroorganismen [1]). Von Professor Dr. Dr. H. Marquardt, Freiburg i. Br. — Genetik der Samenpflanzen. Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Riehl. — Genetik der Bakterien [1]). Von Professor Dr. R. W. Kaplan, Frankfurt a. M. — **Cytogenetik** [1]). Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — **Wachstum** [1]). Von Dozent Dr. J. Reinert, Tübingen. — **Entwicklungsphysiologie.** Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles, Californien (USA). — **Physiologie der Fortpflanzung und Sexualität.** Von Privatdozent Dr. H. Linskens, Köln-Lindenthal. — **Bewegungen.** Von Professor Dr. E. Bünning, Tübingen. — **Viren.** Pflanzenpathogene Viren. Von Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig. — Bakteriophagen [1]). Von Dozent Dr. Dr. W. Weidel, Tübingen. — Sachverzeichnis.

[1]) Der Beitrag folgt in Band XIX.

Die Abschnitte A und B sind von E. Gäumann und die Abschnitte C und D sowie das Sachverzeichnis von E. Bünning redigiert.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany